

LEHRBUCH

DER

BAKTERIOLOGISCHEN UNTERSUCHUNG UND DIAGNOSTIK.

EINE ANLEITUNG

ZUR

AUSFÜHRUNG BAKTERIOLOGISCHER ARBEITEN UND ZUR EINRICHTUNG BAKTERIOLOGISCHER ARBEITSTÄTTEN

mit zahlreichen, vielfach nach Originalphotogrammen hergestellten Abbildungen und mit 8 Tafeln in Lichtdruck, enthaltend 50 Photogramme von Mikroorganismen.

VON

DR. LUDWIG HEIM,

K. BAYR. STABSARZT, PRIVATDOZENTEN AN DER UNIVERSITÄT WÜRZBURG.



STUTTGART.

VERLAG VON FERDINAND ENKE.

1894.

Druck der Union Deutsche Verlagsgesellschaft in Stuttgart.

SEINER EXCELLENZ

DEM GENERALSTABSARZTE DER K. BAYRISCHEN ARMEE,
CHEF DES SANITÄTS-CORPS,

HERRN DR. KARL RITTER VON LOTZBECK,

DEM FÖRDERER DER HYGIENE IN DER ARMEE,

IN VEREHRUNG UND DANKBARKEIT GEWIDMET

VOM VERFASSER.

Vorwort.

Für den Praktiker ist dieses Buch geschrieben. Einen Ueberblick über unsre Kenntnisse von den Erregern menschlicher Infektionskrankheiten soll es geben, den Einblick in sie fördern und vertiefen und die Ausführung selbständiger Untersuchungen ermöglichen. Wer weiss oder wer sich vorstellen kann, was für Parasiten bei der oder jener Krankheit vorhanden sein können, wie sie wirken, was für pathologische Veränderungen sie zu setzen vermögen, wie eine Heilung oder wenigstens eine Verhütung weiterer Ansteckungen in demselben Organismus oder bei Gesunden möglich ist, der wird imstande sein, aus dem Krankheitsbild und seinen Erscheinungen für die Behandlung und die Bekämpfung wichtige Folgerungen abzuleiten, ihm wird mancher, bis dahin dunkle Punkt hell werden und durchsichtig erscheinen. Die richtige Vorstellung ist aber bloss auf Grund einer aus eigner Anschauung gewonnenen Kenntnis davon möglich, wie die Kleinwesen aussehen, wie sie wachsen, wie sie sich im Körper verbreiten, wie man ihnen entgegentreten, wie man sie vernichten oder wenigstens unschädlich machen kann. Bei den Herrn Kollegen, die sich durch ihre Thätigkeit in der öffentlichen Gesundheitpflege und am Krankenbette zu immer weitern Studien, zu stets tieferer Eindringung in die naturwissenschaftlich-medizinische Erkenntnis angeregt und hingetrieben fühlen, herrscht darum auch die Ueberzeugung von der Wichtigkeit mikroparasitologischer Untersuchungen und Arbeiten.

Der beamtete Arzt, der im Interesse des Gemeinwohls das Auftreten ansteckender Krankheiten feststellen, der Desinfektions- und andre Massregeln zu ihrer Bekämpfung anordnen, der hygienische Untersuchungen über Wasser, Luft, Boden u. s. w. vornehmen soll; der klinisch thätige Arzt, der einen Einblick in die Ursache und ins Wesen der Krankheiten bekommen, der die Diagnose durch den Nach-

weis von Parasiten stellen oder unterstützen und bekräftigen will; der junge Arzt und endlich der Studierende, der als Hilfsarbeiter in irgend einem Krankenhause, einem Institute oder einer Untersuchungstelle aus eignem Antrieb oder auf Anregung mikroskopisch-bakteriologische Untersuchungen ausführen möchte, ohne bis dahin Gelegenheit gehabt zu haben, sich einzuarbeiten: sie standen mir bei meinen Darlegungen fortwährend vor Augen.

Ein Lehrer und ein Führer soll dies Buch sein. Wem es nicht möglich war, vorher in einem praktischen Kurse die Handgriffe und Methoden kennen zu lernen, selbst der soll an der Hand dieser Anleitungen zum Ziele kommen, wenn er nur Schritt für Schritt und Punkt für Punkt so verfährt, wie drin steht.

Weil aber oft Untersuchungen vorgenommen werden sollen, wo weder Arbeitstätten noch Apparate vorhanden sind, so habe ich auf die genaue Vorführung aller wichtigen Gebrauchsgegenstände Bedacht genommen und unter Vermeidung jeglichen Ueberflusses nur die nötigen berücksichtigt, diese aber in einer Form und in einer Auswahl, wie sie mir für alle Zwecke am geeignetsten erschienen waren, so dass man mit reichlichen, wie mit spärlichen Mitteln imstande sein wird, eine den Bedürfnissen angepasste Einrichtung zusammenzustellen und die erforderlichen Arbeiten auszuführen. Ratschläge konnte ich um so leichter und sichrer geben, weil mir die Erfahrungen zur Verfügung standen, die ich im Laufe der Zeit sammelte, erst durch Anschaffungen auf eigne Kosten, später durch die Einrichtung einer staatlichen Untersuchungstation, der ich noch vorstehe, und weil ich dazwischen Gelegenheit hatte, in einer zweijährigen Beschäftigung am Kaiserlichen Gesundheitsamte die vollkommnen Einrichtungen dieses weltbekannten Reichsinstituts kennen zu lernen.

Während sich der erste Teil des Werks mit den bakteriologischen Untersuchungen im allgemeinen befasst, geht der zweite auf die besondern Untersuchungen über die morphologischen und biologischen Eigenschaften der Bakterien ein; der dritte gibt eine Schilderung aller Methoden zum Nachweis der Mikroorganismen in und ausser dem menschlichen Körper, verbunden mit einer Beschreibung der dort vorkommenden wichtigern Kleinwesen und ihrer Merkmale. Jeder Abschnitt besitzt ein besondres Titelblatt, weil die Absicht bestehen kann, das Buch in ebensoviele Teile zu zerlegen, um es gleichzeitig an verschiednen Arbeitsplätzen benützen zu können.

Die Holzschnitte stellen die wichtigen Apparate und Gebrauchs-

gegenstände, grossenteils auch Handgriffe bei Untersuchungen dar und sind vielfach nach meinen photographischen Originalaufnahmen genau ausgeführt. Da es mit Hilfe der Photographie gelang, das, was gezeigt werden sollte, mit den nötigen Hilfs- und Nebenapparaten im Zustande der augenblicklichen Verwendung auf einem Bilde zu vereinigen, sind gewissermassen Gruppenbilder entstanden, die, namentlich wenn noch Handgriffe dabei zur Darstellung gelangten, eine Lebendigkeit erhielten, die den Beschauer fesseln, ihn mitten hinein in die Sache versetzen und sie ihm möglichst deutlich und klar machen soll.

In der Ueberzeugung, dass naturgetreue Abbildungen von Mikroorganismen, namentlich von Bakterien und ihren Ansiedlungen durch keinen Zeichner und durch keinen Maler in völlig objektiver Weise wiedergegeben werden können, habe ich die Beigabe von Mikrophotogrammen in Lichtdruck als unentbehrlich gehalten und weder die Mühe der Einarbeitung in die schwierige Kunst der Mikrophotographie, noch die Kosten der Beschaffung der besten dazu existierenden Apparate gescheut. Ich erkenne dabei auch das Entgegenkommen des Herrn Verlegers dankbar an, der die musterhafte Anfertigung der Lichtdrucke der Kunstanstalt von J. B. Obernetter in München zu übertragen sich bereit finden liess.

Es war bisher üblich, Mikrophotogramme von Bakterien, wenn es die Präparate nur immer zuliessen, in möglichst starker und zwar meistens bei etwa 1000facher Vergrösserung zu geben. Das hat auch seine Berechtigung, wenn gewisse feine Formeigentümlichkeiten oder sonstige Merkmale der Bakterien recht deutlich vor Augen geführt werden sollen. Für den vorliegenden Zweck aber war ein andrer Gesichtspunkt massgebend: In der Praxis werden Bakterien gewöhnlich bei 600—700facher Vergrösserung aufgesucht und betrachtet, weil mit den allgemein gebräuchlichen achromatischen Oelimmersionen und Okularen eine weitere Steigerung der Vergrösserung nur unter Beeinträchtigung der Helligkeit und der Schärfe des Bilds erzeugt wird. Wollte ich also dem Untersuchenden Bilder geben, mit denen er die von seinem Mikroskop gelieferten vergleichen könne, so musste ich eine etwa 650fache Vergrösserung wählen. Denn bekanntlich ist es neben der Form und dem Aussehen grade die Grösse der mikroskopisch gesehnen Bakterien, die sich dem Gedächtnis einprägt, und auf die man in erster Linie achtet. Bloss wenn es mir auf die Darlegung besondrer Gestalteigentümlichkeiten ankam, wählte ich eine stärkere Vergrösserung.

So übergebe ich denn mein Werk der Oeffentlichkeit mit dem Wunsche, es möge sich den Herrn Kollegen nützlich erweisen, es möge zu eignen Untersuchungen anregen und dabei ein Führer und Berater sein, um im gegebnen Falle ein richtiges Urteil anbahnen und gewinnen zu helfen, es möge endlich dazu beitragen, dass die bakteriologische Erkenntnis immer breitern Boden gewinne.

Würzburg, im März 1894.

L. Heim.

Inhaltsübersicht.

I. Die Ausführung der bakteriologischen Untersuchungen im allgemeinen und ihre Hilfsmittel.

II. Untersuchungen über die Form- und Lebenseigenschaften der Bakterien.

Anhang.

III. Bakteriologische Diagnostik.

Verzeichnis der Abbildungen im Text.

Die mit * bezeichneten Figuren sind nach Photogrammen in Holz geschnitten (Fig. 37 ist als Autotypie gedruckt), die ich mit dem zu Nah- wie zu Fernaufnahmen geeigneten, vorzüglichen apochromatischen System von C. Zeiss, Anastigmat 1 : 6,3 F = 210 mm, unter Benützung englischer, sog. Sandell-Platten nach von mir gemachten Zusammenstellungen aufgenommen habe.

Erklärung der Abkürzungen.

Um die Uebersichtlichkeit durch die vielen Literaturangaben nicht zu beeinträchtigen, sind die hauptsächlichsten und öfter wiederkehrenden Fundstellen mit bezeichnenden Abkürzungen in den Text aufgenommen worden. Bei der Reichhaltigkeit unsrer Literatur war es nicht immer möglich, jede einzelne Arbeit zu nennen, wenn der Rahmen des Lehrbuchs nicht überschritten werden sollte. Es wurde bei mehreren vorhandnen darauf Bedacht genommen, besonders solche Veröffentlichungen anzuführen, worin weitere Literaturangaben verzeichnet sind, so dass man im einzelnen Falle die einschlägige Literatur ohne besondre Mühe wird auffinden können.

A. = Archiv für Hygiene; herausgegeben von J. Forster, Fr. Hofmann, M. v. Pettenkofer, M. Rubner. München und Leipzig. R. Oldenbourg.
B. = Berliner klinische Wochenschrift; herausgegeben von C. A. Ewald und C. Posner. Berlin. A. Hirschwald.
C. = Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde; in Verbindung mit Leuckart und Löffler herausgegeben von O. Uhlworm. Jena. G. Fischer.
D. = Deutsche medizinische Wochenschrift; herausgegeben von A. Eulenburg und J. Schwalbe. Leipzig-Berlin. G. Thieme.
D. Med. Ztg. = Deutsche Medizinal-Zeitung; herausgegeben von J. Grosser. Berlin. E. Grosser.
F. = Fortschritte der Medizin; herausgegeben von Eberth und O. Vierordt. Berlin. Fischer (H. Kornfeld).
H. = Hygienische Rundschau; herausgegeben von C. Fraenkel, M. Rubner, H. Thierfelder. Berlin. A. Hirschwald.
J. = Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen; herausgegeben von P. Baumgarten. Braunschweig. Harald Bruhn.
K. A. = Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. Berlin. J. Springer.
K. M. = Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte; herausgegeben von Struck. Berlin. A. Hirschwald.
M. = Münchener medizinische Wochenschrift; herausgegeben von O. Bollinger, C. Gerhardt, W. v. Heineke, G. Merkel, J. Michel, R. v. Ranke, M. v. Schleiss, F. v. Winckel, H. v. Ziemssen durch B. Spatz. München. J. F. Lehmann.
M. f. pr. D. = Monatshefte für praktische Dermatologie. Unter Mitwirkung von P. Tänzer herausgegeben von P. G. Unna. Hamburg. L. Voss.
P. = Annales de l'Institut Pasteur; publiées sous le patronage de M. Pasteur par M. E. Duclaux. Paris. G. Masson.
r. = referiert.
T. = Arbeiten auf dem Gebiete der pathologischen Anatomie und Bakteriologie aus dem pathologisch-anatomischen Institut zu Tübingen; herausgegeben von P. Baumgarten. Braunschweig. Harald Bruhn.
V. = Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin von R. Virchow. Berlin. Georg Reimer.
W. = Wiener medizinische Wochenschrift; herausgegeben von H. Adler. Wien. M. Perles.
Z. = Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten; herausgegeben von R. Koch und C. Flügge. Leipzig. Veit & Comp.

Bei den Wochenschriften bedeutet die erste hinter der Abkürzung stehende Zahl das Jahr, bei den übrigen Zeitschriften die Bandnummer. Die zweite Zahl gibt in allen Fällen die Seite an.

Verbesserungen und Nachträge.

Seite 71 Zeile 10 von oben soll es statt 5—8 heissen 6.
Seite 73 sind die Zahlen der Bezeichnungen zu 8, zu 9 und 10 um 1 zu erhöhen.
Seite 74 Zeile 9 von oben soll es statt ½—1 heissen 1½—2 Stunden.

Bemerkung: Diese Zeit lässt sich wesentlich abkürzen und etwa auf ¾—1 Stunde vermindern, wenn man die Nährgelatine statt insgesamt in einem Literkolben, in mehrern kleinen Portionen zu etwa 250 ccm verteilt in den Dampftopf stellt, weil die Hitze in die kleinern Mengen schneller eindringt.

Wenn es nicht darauf ankommt, dass das Nährmittel schliesslich einen geringen Bruchteil Alkalis weniger enthält, so kann man, wie bei der Nährbouillon angegeben, auf die Neutralisierung sofort die Alkalisierung folgen lassen: Es wird dadurch eine nochmalige Dampfeinwirkung erspart, die die Erstarrungsfähigkeit der Gelatine immer beeinträchtigt.

Seite 76 Zeile 2 von oben soll es statt ½ heissen ¾
und Zeile 8 von unten soll es statt zu 9 heissen zu 10.
Seite 77 Zeile 11 von oben soll es statt zu 10 heissen zu 11 und 12.
Seite 78 Zeile 6 von unten soll es statt zu 6 heissen zu 5.
Seite 79 sind die Zahlen zu 8 und 9, 10, 11 je um 1 zu erhöhen.
Zu Seite 140 Zeile 21 von unten: Derselbe Apparat ist schon früher von Nicolaier angegeben worden, nur war dabei der Verschluss der Glasröhren statt durch Glashähne durch kurze Enden dickwandigen Gummischlauchs bewirkt, der durch Quetschhähne zusammengepresst wurde (C. 15. 227).
Seite 154 und 155 soll es in den Seitenüberschriften statt die Strohscheinsche heissen die Stroscheinsche Spritze.

I.

Die Ausführung der bakteriologischen Untersuchungen im allgemeinen und ihre Hilfsmittel.

Die mikroskopische Untersuchung und ihre Hilfsmittel.

Das Mikroskop.

Mikroskope der Neuzeit gleichen älteren eben noch in ihren äussern Umrissen; die in den letzten Jahrzehnten gemachten Fortschritte haben diese Instrumente in ihren einzelnen Teilen dermassen umgestaltet, dass ein früheres Muster kaum mehr verwendbar ist, auch wenn man daran dächte, es mit neuen optischen Einrichtungen auszustatten. Die Mangelhaftigkeit der mikrometrischen Verschraubung des Tubus, die Niedrigkeit und Unvollkommenheit des Objekttisches erlaubten das gar nicht, und die jetzigen Beleuchtungsapparate fänden keinen Platz mehr.

Das feste und schwere Stativ an neuen Mikroskopen besitzt einen hufeisenförmigen Sockel, eine Vorrichtung zum Umlegen — von wesentlicher Wichtigkeit nur für Mikrophotographie und Projektion —, eine Schiene zur Anfügung eines Beleuchtungsapparates, die Hülse als Träger des Tubus, einen reichlich grossen und genügend hoch angebrachten Objekttisch, den sog. groben Trieb und die Mikrometerschraube für feine Einstellung.

Ein grosser Objekttisch ist für bakteriologische Forschungen ein notwendiges Bedürfnis, um die umfangreichen Platten und Schalen mit der ausgebreiteten keimhaltigen Gelatineschicht allseitig bei schwacher Vergrösserung durchmustern zu können. In seiner Mitte befindet sich ein kreisförmiger Ausschnitt für die Aufnahme der Linse des Beleuchtungsapparats, an Stelle der einfachen Blenden, wie sie sonst zu histologischen Untersuchungen im Gebrauch waren und noch sind. An grössern Stativen hat der Objekttisch die Form einer drehbaren Scheibe, deren Rand auch wohl mit einer (für bakteriologische Zwecke nicht in Betracht kommenden) Gradteilung versehen ist. Dagegen gewährt das Vorhandensein zweier Stellschrauben zur Zentrierung den angenehmen Vorteil, einen am Rande des Gesichtsfeldes beobachteten Gegenstand zur genauen Betrachtung in die Mitte befördern zu können, ohne Gefahr zu laufen, durch eine unvorsichtige Berührung des Objektträgers die Stelle aus dem Beobachtungskreis zu verlieren. Zur planmässigen Durchmusterung jedes einzelnen Punktes im Präparate gibt es beliebig auf- und absetzbare Tischplatten mit Verschiebungsvorrichtungen für den festgeklemmten Objektträger von vorn nach hinten und von links nach rechts, während eine Millimeterskala mit Noniusteilung die jeweilige Stellung abzulesen gestattet, so dass derselbe Punkt im

Präparate stets mit Leichtigkeit wieder gefunden werden kann. Solche bewegliche Objekttische müssen eigens verlangt werden.

Der grobe Trieb bezweckt die mechanische vorsichtige Annäherung des Tubus mit dem Objektive ans Präparat. Wer ein Instrument besitzt, bei dem diese Annäherung nur durch freie Schiebung mit der Hand zu geschehen hat, achte darauf, dass nicht Ansatz von Schmutz irgend welche Unebenheiten und Ungleichmässigkeiten in der Führung bedinge. Die Reinigung des herausgenommenen Rohrs hat öfters durch gründliche Abreibung mit einem trocknen Tuch zu geschehen; Oelen ist zu vermeiden.

Die Mikrometerschraube dient zur feinen Einstellung, nachdem die ungefähre mit Trieb oder Schiebung erfolgt ist. Ihr Gang muss ein absolut gleichmässiger und sanfter sein und die Einstellung an jedem Punkte aufs genaueste gestatten. Billige Fabrikate weisen schon an dieser Stelle Unzuträglichkeiten auf: es gelingt oft nicht, die Einstellung auch nur auf kurze Zeit zu fixieren, das rasche Verschwimmen des eben scharf gesehenen Bildes ermüdet Auge und Geduld. Versäume niemand beim Ankauf auf diesen Punkt genau zu achten! Der Handknopf der mikrometrischen Verschraubung sitzt entweder oben am Stativ oder unter der Tubussäule, was unpraktischer ist.

Der Tubus selbst ist in der Regel 160 mm lang*) und darauf sind auch unsre Systeme „justiert". Im Gegensatz zu diesem „kontinentalen Tubus" gibt es noch einen „englischen", 250 mm langen. Eine vorhandne Auszugsvorrichtung ermöglicht zwar eine Vergrösserung des mikroskopischen Bildes, aber auf Kosten seiner Schärfe, und wird deshalb für gewöhnlich nicht benützt.

So wichtig eine geeignete, gute Ausstattung des mechanischen Teils der Mikroskope ist, der Schwerpunkt liegt immer im optischen Teil, in den Linsen zur Erzeugung (Objektive), Erhellung (Beleuchtungsysteme) und Vergrösserung (Okulare) des Bildes.

Die Objektivlinsen für unsre Zwecke sind zweierlei: Trockensysteme und Tauch- oder Immersionssysteme.

Von Trockensystemen — jedem Arzt aus den histologischen Kursen bekannt — bedürfen wir zwei, ein schwächeres, das mit mittelstarken Okularen eine etwa 40—100fache Vergrösserung liefert, soll uns einen Ueberblick über Präparate geben, die später der Betrachtung mit schärfern Systemen unterzogen werden. Es ist viel gebraucht und unentbehrlich zur Betrachtung von Bakterienansiedlungen auf dem in dünner Schichte ausgebreiteten, festen, durchsichtigen Nährboden; denn schon bei der geringen Vergrösserung kann die Art und Zugehörigkeit zu dieser oder jener Gattung der Bakterien mit mehr oder weniger Sicherheit bestimmt werden. Die Linse muss einen genügend grossen Abstand („Fokalabstand") vom Objekt haben, um eine Hantierung mittels Platinnadeln unter Kontrolle des mikroskopierenden Auges zu ermöglichen. Sie wird weit häufiger angewendet als

das stärkere Trockensystem, das mehr zum Studium histologischer Einzelheiten, nicht aber zur Untersuchung auf Bakterien sich

*) Eingerechnet sind dabei die Längen etwaiger Zwischenstücke, wie Revolver- oder Schlittenobjektivträger, was beim Ausziehen eines mit Teilung versehenen Tubusstückes zu berücksichtigen ist. Die Masse verstehen sich von der obern Ansatzfläche des Objektivgewindes bis zum obern Tubusrande.

eignet, öfter jedoch zur Bestimmung von Schimmelpilzen dient. Es soll mit schwachem Okular ein scharfes und tadelloses Bild zwischen 200- und 300fach linear liefern.

Für die Auffindung und das Studium einzelner Bakterien reicht eine derartige Linse nicht aus. Dazu bedarf es einer Vergrösserung von etwa 500fach ab. Die Leistungsfähigkeit aller unsrer Systeme begrenzt sich bei 1000—1200maliger Vergrösserung; für die gewöhnliche Praxis genügt eine etwa 600fache, immer absolute Klarheit, Deutlichkeit und Helligkeit vorausgesetzt.

Trockensysteme werden einer solchen Anforderung nicht mehr gerecht; ihr Auflösungsvermögen geht über einen gewissen Grad nicht hinaus, da die Lichtstrahlen, ehe sie vom Objekte zum Objektiv gelangen, die Luft zu durchlaufen haben, ein Medium von wesentlich verschiednem, bekanntlich geringerm Brechungsvermögen, wie das des Glases ist. Die dadurch bedingte Störung kann nur durch Ausschaltung der Luft und Ersatz durch ein Mittel mit einem Brechungsindex beseitigt werden, der dem des Glases möglichst gleichkommt. Nur eine beschränkte Anzahl von Flüssigkeiten ist dazu geeignet; erst nahm man Wasser, dann gewisse Oelsorten, die zwischen Objekt und Objektiv gelagert, den Lichtstrahlen ein gleichmässiges, optisch „homogenes" Medium für den Durchtritt bieten. Unter allen hat sich das Zedernöl am brauchbarsten bewährt.

Das Suchen nach einem als Tauchflüssigkeit verwendbaren Mittel von möglichst grossem Brechungsvermögen zur Erhöhung der numerischen Apertur (s. sp.) führte zum Monobromnaphthalin. Dazu hat Abbe ein System berechnet und Zeiss es hergestellt, das die Verwendung von Objekt- und Deckgläsern aus besonderm (Flint-) Glas und die Einbettung des Präparates statt in Kanadabalsam in Mittel von hohem Brechungsindex erfordert und darum mit grossen Erschwernissen in der Anwendung verknüpft ist.

Die Verschiedenheiten der Wirkung auf den Durchtritt der Lichtstrahlen durch Glas einerseits, Luft, Wasser und Zedernöl andrerseits lassen sich recht deutlich vor Augen führen, wenn man drei Fläschchen nimmt, in jedes einen Glasstab hineinstellt, dann in das eine Zedernöl und ins andre Wasser füllt, während das dritte leer bleibt. Im Oel ist der Stab beinahe nicht mehr zu erkennen.

Die Tauch- oder Immersionssysteme wurden, nachdem Amici und Stephenson die Methode erfunden, von Abbe berechnet, zuerst von Zeiss konstruiert und von Koch für die bakteriologische Wissenschaft verwertet.

Nur die „Oelimmersion" ist als annähernd vollkommen anzusehen, während die „Wasserimmersion" als mit einem nicht völlig homogenen Medium arbeitend an Leistungsfähigkeit zurücksteht, die sich noch verringert, wenn den Linsen eine Deckglasdicke zugemutet wird, für die sie nicht justiert sind; doch lässt sich dieser Misslichkeit durch Anbringung einer Korrektionsschraube begegnen, die aber bei Oelimmersionen überflüssig ist. Bei manchen Fabrikaten ist es überhaupt nur möglich, Deckgläschen von einer Dünnheit unter 0,15 mm zu verwenden, weil ihr Fokalabstand ein zu geringer ist. Das ist ein Mangel, der das Arbeiten erschwert und die Verwendbarkeit des Systems beeinträchtigt.

Die gewöhnlichen achromatischen Linsen haben neben ihren Vorzügen immer noch gewisse Fehler, von deren Vorhandensein man sich leicht durch Betrachtung des von ihnen gelieferten Bildes mit

starkem Okulare überzeugen kann. Dieses vergrössert eben auch die Fehler: das Bild verliert an Schärfe und Helligkeit. Besonders die stärkeren Objektive können deshalb nur mit schwachen Okularen ohne Nachteil kombiniert werden.

Den Forschungen eines Abbe und der Leistungsfähigkeit des Zeissschen Institutes in Jena verdanken wir die Herstellung eines neuen Glasflusses. Namentlich Borat- und Phosphatgläser sind es, woraus Linsensysteme von ausserordentlicher Schärfe und Helligkeit des Bildes geschliffen wurden. Bei diesen sog. Apochromaten, die bei relativ mässiger Eigenvergrösserung sehr starke Okulare vertragen, ist im Gegensatz zu den achromatischen Systemen die richtige Farbenkorrektion für alle Zonen in gleicher Weise hergestellt. Ein gewisser Fehler für die ausseraxialen Teile des Sehfeldes bleibt allerdings auch hier bestehen; dieser aber wird durch eigens zu den Systemen konstruierte Okulare aufgewogen, denen gerade der entgegengesetzte Fehler absichtlich gegeben wurde (stärkere Vergrösserung für Rot wie für Blau): durch die „Kompensationsokulare". (Czapski, s. a. Katalog von C. Zeiss über Mikroskope.)

Die verschiednen Objektive werden je nach der Gepflogenheit der einzelnen optischen Werkstätten mit Zahlen oder Buchstaben bezeichnet. Das ist lediglich zur äusserlichen Unterscheidung. Den Mikroskopiker interessiert als das Wichtigste die numerische Apertur (Abbe), deren Wert (ausser bei Zeissschen Fabrikaten) für gewöhnlich nicht auf den Linsenfassungen eingraviert, sondern bloss in den Preisverzeichnissen der Firmen aufzufinden ist. Je höher die numerische Apertur, desto grösser die Leistungsfähigkeit des Systems.

Die sie ausdrückende Zahl wird erhalten, wenn man den Wert für das Auflösungsvermögen eines Systems multipliziert mit dem Brechungsindex der zwischen Objekt und Objektiv befindlichen Schichte (Luft, Wasser, Oel, Monobromnaphthalin).

Das Auflösungsvermögen ist gleich dem Sinus des halben Oeffnungswinkels.

Das ist der Winkel, gebildet von den äussersten Strahlen, die, von demselben Punkte des Objektes ausgehend, eben noch ins Auge des Beobachters gelangen.

Der Leistungsfähigkeit der Objektive kommen wir ausserdem noch durch eine optische Vorrichtung zu Hilfe, um dem zu untersuchenden Objekte sehr viel Licht zuzuführen: durch die Einschaltung eines Linsensystems zwischen Beleuchtungsspiegel und Objekt. Der Abbesche Beleuchtungsapparat, bestehend aus einem Hohl- und Planspiegel, einem Blendenträger und dem „Kondensor", ist dazu bestimmt, die vom Spiegel zurückgeworfnen Lichtstrahlen mittels des Kondensors von möglichst grosser numerischer Apertur derart zu sammeln, dass sie sämtlich an der Stelle des Objektes vereinigt werden. Dieser Punkt liegt etwa 2 mm über dem Objekttisch. Ist der Objektträger von dünnem Glase, so muss die Beleuchtungslinse etwas tiefer gestellt werden; vollkommene Instrumente besitzen einen Zahnradtrieb, der dies in feiner Weise ermöglicht.

Nächst diesem Punkt ist die richtige Auswahl und Stellung des Spiegels in Betracht zu ziehen. Wo es sich um Erreichung

grösstmöglichster Lichtmenge, wie besonders beim Arbeiten mit starken Systemen, handelt, muss als Lichtwerfer der Planspiegel notwendig gewählt werden, denn nur, wenn die Lichtstrahlen parallel nach der Sammellinse hingeführt werden, ist die Vereinigung einer möglichst grossen Menge im Objekt gewährleistet. Beim Gebrauch schwächerer Systeme kann man eher einen Verlust von Lichtstrahlen mit in den Kauf nehmen und den Hohlspiegel benützen, wodurch vermieden wird, dass das Spiegelbild des Fensterkreuzes, von Bäumen, fliegenden Vögeln u. dgl. im Gesichtsfeld erscheint.

Für gewisse Zwecke, wenn es sich um Deutlichmachung des Unterschieds im Brechungsvermögen mikroskopischer Objekte handelt, ist die vom Abbeschen Beleuchtungsapparate gelieferte Lichtmenge zu stark; das ist bei allen ungefärbten Präparaten der Fall. Denn, wie Koch darlegte, setzt sich das mikroskopische Bild des nicht gefärbten Objektes infolge Diffraktion der durchgehenden Lichtstrahlen aus Linien und Schatten zusammen. Soll also die Struktur zur Wahrnehmung gelangen, so muss die Menge der einfallenden Lichtstrahlen beschränkt werden. Dazu dient die dicht vor dem Kondensor angebrachte Blendungsvorrichtung. Früher waren den Instrumenten eine Anzahl von Scheiben mit verschieden grosser zentraler Durchlochung beigegeben, um in den Blendenträger je nach Bedarf eingelegt zu werden. Jetzt wird man der an ihre Stelle getretnen Irisblende nicht mehr entraten; weit bequemer in der Handhabung, gestattet sie auch feinere Abstufungen. Die schiefe Beleuchtung, durch exzentrische Stellung der Blendenöffnung mittels Bewegung der am Träger befindlichen Schraube ermöglicht, kommt für bakteriologische Untersuchungen kaum, die sog. Dunkelfeldbeleuchtung, erzielt durch eine sternförmige Zentralblende, gar nicht in Anwendung.

In allen Fällen also, wo histologische Einzelheiten oder ungefärbte Präparate von Bakterien bei schwacher oder starker Vergrösserung, wo Plattenkulturen, lebende Kleinwesen, z. B. im hängenden Tropfen, zur Untersuchung gelangen sollen, versäume man nie, vor der mikroskopischen Einstellung die geeignete Blende einzuschieben; je schwächer die Vergrösserung, desto enger soll im allgemeinen ihre Oeffnung sein, es ist die engste Blendung zu empfehlen, die noch genügende Helligkeit gewährt.

Im Gegensatz zu dem auf diese Weise gewonnenen Strukturbild sprechen wir mit Koch von einem Farbenbild, wenn gefärbte Bakterien mit Hilfe des vollen Lichtkegels des Abbeschen Kondensors besichtigt werden. Die Lichtflut, die bei richtiger Wahl und Stellung des Spiegels und des Linsensystems durch den „offnen Kondensor" über das Präparat hereinbricht, löscht Linien und Schatten in der Umgebung der gefärbten Teile fast vollständig, beseitigt die Diffraktion, hebt die Unterschiede zwischen Hell und Dunkel auf und lässt die gefärbten Bakterien hellleuchtend und scharf hervortreten. Es muss zu dem Ende also vor der mikroskopischen Einstellung jede Abblendung des beleuchtenden Strahlenkegels vermieden oder beseitigt werden.

Direktes Sonnenlicht ist, wie bekannt, für den Mikroskopiker nicht geeignet; er hat das weisse Licht, wie es eine Wolke oder eine gegenüberliegende helle Wand zurückwirft, am liebsten; das Instrument stellt er etwas entfernt vom Fenster auf.

Mehrfach machte sich bei den Untersuchern das Bedürfnis nach einer gleichmässigen, in der Intensität beliebig abstufbaren Lichtquelle geltend, dem man durch die Mikroskopierlampen zu begegnen suchte. Wenn auch das Ideal der völligen Gleichheit des künstlichen Lichtes mit dem des Tages noch nicht erreicht ist, so ist man ihm mit der Kochs-Wolzschen Mikroskopierlampe doch immerhin nahe. Nach Schiefferdecker wird, nachdem früher eine kleine Petroleumlampe, nachher ein Auersches Gasglühlicht als Quelle gedient hatte, jetzt ein Zirkonleuchtkörper verwendet. Vermittelst eines an der Innenfläche des die Flamme und den Cylinder umgebenden geschwärzten Schornsteins angebrachten Reflektors wird das Licht in einen kurzen, an der gegenüberliegenden Wand des Schornsteins angebrachten Blechcylinder geworfen; dieser ist von einem Kork mit einer Durchbohrung zum Einsatz eines etwa 1 cm dicken Glasstabes verschlossen. Er leitet die Lichtstrahlen nach dem Gesetz der totalen Reflexion zum Mikroskop. Für die Untersuchung ohne Abbeschen Beleuchtungsapparat ist er gekrümmt und endigt mit einem Aufsatze farbiger Korrektionsgläser etwas unterhalb der Blendenöffnung des Objekttisches; bei der Untersuchung mit dem Abbeschen Beleuchtungsapparat muss ein gerader und sehr dicker Stab so weit an den Konkavspiegel herangebracht werden, dass er etwa 9—10 cm entfernt ist und das Licht auf die Mitte des Spiegels wirft. Vorläufig stehen einer ausgedehntern Verwendung der Lampe ihr Anschaffungspreis (92 Mk.) und die Betriebskosten im Wege, da man für den Zirkonleuchtkörper eine nicht unerhebliche Menge Sauerstoff verbraucht, der in besondern Ballons in komprimiertem Zustande bezogen wird.

Die mikroskopische Einstellung bereitet bei Trockensystemen keine Schwierigkeit. Mittels des groben Triebes wird das Objektiv dem Objekte genähert, bis das Bild erscheint. Ganz schwache Objektive erheischen oft gar keine feinere Einstellung mit der Mikrometerschraube, wohl aber die stärkern.

Bei Verwendung von Tauchsystemen kommt erst ein Tröpfchen der Immersionsflüssigkeit aufs Präparat. (Zeiss brachte eigne Gläser mit Kappe und Griffel für Immersionsöl in den Handel, die Sparsamkeit und Sauberkeit beim Arbeiten gestatten.) Liegt das Präparat auf dem Objekttisch und hat man sich bei schwacher Vergrösserung die geeignetste Stelle ausgesucht, so begibt sich das beobachtende Auge in die Höhe des Objekttisches, die Hand fasst den groben Trieb an der gegenüberliegenden Seite und schraubt zunächst so weit, dass das Immersionssystem ans Oel gelangt (in diesem Augenblick leuchtet der Rand des Objektträgers und des Deckglases auf), alsdann noch etwas tiefer, bis es das Deckglas beinahe berührt. Nun erst sieht man ins Okular und legt die rechte Hand an die Mikrometerschraube. Diese wird sehr vorsichtig von links nach rechts gedreht, so dass sich der Tubus hebt. Zu aller Sicherheit bewegen Daumen und Zeigefinger der linken Hand das Präparat ganz geringfügig hin und her, um sofort den Widerstand wahrzunehmen, wenn infolge unrichtiger Bewegung des Tubus die Linse gegen das Objekt drückt. Man schraubt so lange hoch, bis das Bild erscheint und verbessert, bis es absolut scharf ist.

Will das nicht gelingen, so ist meist eine Beschmutzung (eingetrocknetes Oel oder dgl.) Ursache der Verschleierung; Anfängern begegnet dies nicht selten an Trockensystemen, die fälschlicherweise ins Oel getaucht wurden oder an unvorsichtig behandelten, nicht sorgfältig abgewischten Tauchlinsen.

Im allgemeinen soll der Untersuchung mit starken Systemen eine Durchmusterung des Präparats mit einem schwachen voraufgehen. Das ist durch die Einführung der Revolverobjektivträger sehr bequem gemacht. Am geeignetsten wird bei der Anschaffung einer für drei Systeme gewählt. Manche Instrumente haben den Fehler, dass

zwischen der feststehenden Deckplatte und den beweglichen Ringen eine Lücke bleibt, durch die dem Eintritt von Staub der Weg offensteht. Ein andrer Fehler ist der, dass die Systeme nicht gehörig zentriert eingestellt werden können; beispielsweise liegt dann ein Punkt, der mit dem schwachen Objektive in der Mitte des Gesichtsfeldes gesehen wurde, nach Einschiebung des stärkern gegen den Rand zu oder gar ausserhalb des Gesichtsfeldes.

Diesen Missstand, der sich namentlich bei Nachschaffung von neuen Systemen an alte Stative geltend macht, hat Zeiss durch die Konstruktion der Schlittenobjektivwechsler beseitigt, mittels deren jeder selbst die genaue Zentrierung vornehmen kann. Man braucht ein Tubusschlittenstück und für jedes System ein eignes Objektivschlittenstück. Zwei mit einem Uhrschlüssel verstellbare Schrauben besorgen die Bewegungen nach den beiden in Betracht kommenden Richtungen.

Zur Einstellung schraubt man zunächst das stärkste Objektiv an den Tubus ohne Schlittenstück (schwächstes Okular). Als Objekt wird ein sog. Objektivmikrometer benützt, das mit Klemmen in der bestimmten Lage auf dem Objekttisch gehalten wird. Ich verfuhr dabei so, dass ich den letzten Teilstrich des Mikrometers mit seinem untern oder obern Ende nach dem Augenmass in die Mitte des Gesichtsfelds brachte. Noch geeigneter wäre ein (eigens zu bestellendes) Mikrometer mit kreuzförmig eingeritzten Skalen in $^1/_{100}$ Millimeterteilung, deren Kreuzungspunkt ganz genau in die Mitte eingestellt werden kann. Ist das geschehen, so wird das Objektiv abgenommen und nach Anschraubung des Tubus- und des Objektivschlittenstückes wieder an den Tubus gesetzt. Nach vollendeter scharfer Einstellung gelingt es leicht durch Regulierung mit dem beigegebnen Uhrschlüssel in horizontaler und vertikaler Richtung dieselbe Stelle des festgeklemmten Objektes in die Mitte des Gesichtsfeldes zu bekommen. Dann werden die folgenden Systeme mit ihren Objektivschlittenstücken angesteckt und die Zentrierung in derselben Weise bewerkstelligt.

Ein gutes Mikroskop ist ein achtunggebietendes Kunstwerk und muss mit der grössten Rücksicht behandelt werden.

Nach jedesmaligem Gebrauche ist es sorgsam zu reinigen und wohl zu verwahren. In erster Linie ist die Immersionslinse von der Tauchflüssigkeit durch Abtupfen mit Fliesspapier und Abwischen mit von Benzin befeuchteter, weicher Leinwand zu befreien. Der Objekttisch ist sorglich vor Verunreinigung zu bewahren, namentlich vor Berührung mit verflüssigten Gelatinekolonien bei der Untersuchung von Plattenkulturen. Säuren, Alkalien, Sublimat u. s. w. lassen untilgbare Flecke darauf zurück, die zwar nicht schaden, aber unschön aussehen.

Bei Nichtgebrauch wird das Mikroskop, um schädigendes Licht von ihm abzuhalten, unter eine Glocke von braunem Glase gesetzt (innen etwa 38 cm hoch und 17 cm weit; Fig. 1).

An **Hilfs- und Nebenapparaten** sind etwa folgende nötig:

Ein Objektmikrometer, 10 mm, das letzte in Zehntel geteilt, womit sich u. a. die Grösse des Gesichtsfeldes berechnen lässt.

Ein Okularnetzmikrometer zum Einlegen auf die Blende des Okulars (am besten mit einem Messokular zu benützen). Es dient mehr für schwache Vergrösserungen. Bakterien werden hinsichtlich ihrer Grösse viel geeigneter nach bekannten Dingen z. B. roten Blutkörperchen abgeschätzt, statt gemessen (s. später).

Fig. 1.



Ein Okularzählnetz, das nicht bloss im zentralen Teil, sondern (nach meiner Angabe von C. Zeiss gefertigt) auf seiner ganzen Oberfläche mit einem Netze je 1 mm voneinander entfernter, abwechselnd starker und schwacher Linien durchzogen ist, zum Abzählen sehr dicht stehender Kolonien auf Platten.

Vorrichtungen zur Erwärmung sind nötig, wenn der Entwicklungsgang lebender Kleinwesen bei höherer Temperatur, z. B. Körperwärme unter stetiger mikroskopischer Kontrolle bleiben soll. Die früher in verschiednen Abänderungen benutzten heizbaren Objekttische sind jetzt durch kleine doppelwandige Brutschränke überholt, die für jedes Mikroskop besonders angepasst sein müssen und es derart einschliessen, dass nur der obere Teil des Tubus und die Mikrometerschraube nach aussen ragen. Thermoregulator und Thermometer sorgen für die gleichmässige Temperaturerhaltung im Wasser, das sich zwischen den Wandungen befindet und von unten durch eine Gasflamme erwärmt wird. Eine Wand besteht aus Glas, das während der Nichtbeobachtung zum Schutz gegen Wärmeverlust mit schlechten Wärmeleitern bedeckt ist. Seitlich sind verschliessbare, weite Oeffnungen eingelassen, um den am Objekttisch manipulierenden Händen den Eintritt ins Innere zu ermöglichen. Das Ganze kann auf ein eignes Stativ gesetzt werden. (Fabr. F. & M. Lautenschläger, Berlin.)

Die Wiedergabe der mikroskopischen Befunde geschah vielfach durch Zeichnung. Zu dem Zwecke existieren verschiedne Zeichenapparate. Für die Wiedergabe der feinen Merkmale von Kleinwesen eignet sich keins dieser Instrumente, überhaupt die Zeichnung wenig, da sie dem Hineintragen subjektiver Empfindungen ins Bild freien Spielraum lässt. Allein die photographische Aufnahme der Bilder kann eine objektive und naturgetreue Darstellung erwarten lassen. Freilich gehören dazu kostspielige Apparate und eine besondre Schulung.

„Was für ein Mikroskop empfehlen Sie mir?" ist eine häufig an den Fachmann gestellte Frage. Die Gegenfrage: „Wie viel wollen Sie dafür anlegen?" leitet die Antwort ein. Denn brauchbare Mikroskope sind zu den verschiedensten Preisen zu bekommen, vorzügliche Instrumente müssen höher bezahlt werden.

Die deutsche Arbeit steht mit der Firma C. Zeiss in Jena obenan. Für bakteriologische Untersuchungen einschliesslich aller histologischen eignet sich etwa folgende Zusammenstellung (nach Katalog Nr. 29 unter Berücksichtigung der Billigkeit):

Stativ IVa mit Abbeschem Beleuchtungsapparat nebst Irisblendung	M.	215
Achromatische Objektive AA und DD (ohne Korrektion)	„	84
Homogene Immersion 1/12; numerische Apertur 1.20	„	160
Huyghenssche Okulare Nr. 2 und 4	„	14
Revolver für drei Objektive	„	27
Objektmikrometer, Okularzählnetz (s. oben)	„	11
Summe	M.	511.

Wer noch vollkommenere Einrichtungen (höhere numerische Apertur des Abbeschen Kondensors und der Oelimmersion, grösseres Stativ u. dgl., wünscht, findet Näheres im Katalog, dessen eingehende Durchsicht jedem Mikroskopierenden angelegentlichst empfohlen sei. Ich bin aber der Ansicht, dass, wer einen derartigen Wunsch hegt, lieber gleich zu den apochromatischen Systemen übergehen soll, worin Zeiss einzig und unerreicht dasteht. Dann würde ich, um in späterer Ausdehnung der Arbeiten nicht gehindert zu sein, gleichzeitige Wahl eines Stativs für Mikrophotographie vorschlagen. Zunächst folgende Kombination:

Stativ für Mikrophotographie mit Abbes Bel.-App. 1.40 num. Ap.	M.	350
Apochromat. Trockensystem 0.30 num. Ap.; 16.0 mm äqu. Brennweite	„	100
Apochromat. homogene Immersion 1.40 num. Ap. 3.0 äqu. Brennweite	„	500
Kompensationsokulare 2, 4, 8, 12	„	100
[Messokular für die apochromatischen Objektive	„	30]
Objektmikrometer 10 mm	„	6
Reagierglashalter nach v. Sehlen	„	5
1 Tubus- und 2 Objektivschlittenstücke nebst Etui	„	34
Summe	M.	1125
ohne Messokular	M.	1095.

Sehr gute Systeme fertigen auch W. & H. Seibert in Wetzlar; nur die Form des Stativs erfreut sich nicht der Beliebtheit aller; doch hat es den Vorteil einer eigenartigen, sehr zuverlässigen und dauerhaften mikrometrischen Verschraubung. Seibert ist billiger als Zeiss. Eine empfehlenswerte Zusammenstellung ist (nach Katalog Nr. 21):

Mittleres Stativ Nr. 3 mit Abbeschem Bel.-App. und Irisblende	M.	200
Objektiv (schwaches, zur Zählung sehr dichtstehender Kolonien) Nr. 0	„	21
„ II, V (Trockensysteme)	„	54
„ X (homogene Immersion 1/12; num. Ap. 1.30)*)	„	200
Okulare 0. I. II.	„	22,50
Revolver für drei Systeme	„	20
Objektmikrometer 10 mm, das letzte in Zehntel geteilt, und Okularzählnetz (in oben angegebner Weise eigens zu bestellen!) etwa	„	11
Summe	M.	528,50

*) Bei Auswahl einer homogenen Immersion 1/12; num. Ap. 1.20 weniger „ 70
Rest M. 458,50.

E. Leitz in Wetzlar liefert die billigsten Instrumente. Da sie den Anforderungen entsprechen, werden sie am meisten verlangt. Die Leistungsfähigkeit seiner Systeme scheint mir zwar nicht immer die gleiche zu sein, doch reicht ein mit Unterstützung eines Sachverständigen ausgewähltes Mikroskop für die Zwecke der Praxis vollkommen aus. Ueber die Dauerhaftigkeit muss ich mit einem Urteile noch zurückhalten.

In der äussern Ausstattung sind die Fabrikate dieser Firma den Zeissschen Mustern bis ins einzelne nachgemacht.

Die gangbarste Zusammenstellung ist (Katalog Nr. 35):

Stativ Ia mit Abbeschem Bel.-App. und Irisblende	M. 190
Objektiv (schwaches, zur Zählung sehr dichtstehender Kolonien) Nr. 1	„ 15
Objektiv 3. 7 (Trockensysteme)	„ 45
Homogene Immersion 1/12; num. Ap. 1.30*)	„ 100
Okulare I. III. IV.	„ 15
Revolver für drei Systeme	„ 20
Objektmikrometer, Okularzählnetz } wie oben; eigens zu bestellen; etwa	„ 11
	Summe M. 396

*) Bei Auswahl eines von dieser Firma gelieferten sog. Pantachromaten, Homogene Immersion P2, num. Ap. 1.30 mehr M. 60

Summe M. 456.

Die genannten drei Firmen versorgen wohl den grössten Teil der deutschen Institute und Aerzte und viele des Auslands mit Instrumenten. Es gibt auch noch andre namhafte Firmen, wie Hartnack (Potsdam), Winkel (Göttingen), Reichert (Wien) u. a. Doch stehen mir darüber persönliche Erfahrungen nicht zu Gebote.

Das Eine möge als Regel festgehalten werden: Leistungsfähige Mikroskope mit brauchbarem Stativ, Abbeschem Beleuchtungsapparat und Oelimmersion sind unter 330 M. nicht zu bekommen. Vor allen sog. „Bazillen-Mikroskopen“, wie sie um den Preis von 250, selbst 180 M. häufig angekündigt werden, ist entschieden zu warnen.

Sonstige Gebrauchsgegenstände und Hilfsmittel bei mikroskopischen Arbeiten.

Der Mikroskopiertisch sei nicht zu hoch, damit der Untersuchende bequem ins Okular sehen kann. Eine Unterlage von Sitzbrettern oder ein Drehstuhl ist andernfalls nötig. Die Ausmasse der Tischplatte seien genügend gross, mindestens 120 : 75 cm; ihre hintern und die seitlichen Ränder umgeben Schutzleisten. Es gibt recht luxuriös ausgestattete Tische mit Schränkchen, Schubladen, Fächern verschiedenster Grösse, es genügt aber der denkbar einfachste, dem die nicht ausbleibende Besudlung mit Farbstofflösungen, ein etwa nötiges oberflächliches Absengen behufs Desinfektion, das Einbohren von Löchern u. dgl. nichts schadet. Es ist sogar gut, den Raum unter der Tischplatte frei zu lassen, um Schlauchleitungen unten führen und an einem beliebigen Punkte an die Oberfläche treten lassen zu können. Bedeckung mit Wachsleinwand oder starkem, hellen Papier schützt ihn nicht nur vor Verunreinigungen, sondern lässt auch die Beschmutzung rascher erkennen und leichter beseitigen.

Auf dem Tisch sollen ausser dem Mikroskop wenigstens folgende Gegenstände vorhanden sein:

Objektträger im gangbarsten, dem englischen Format, 76 : 26 mm, aus weissem Solinglas.

Hohlgeschliffene Objektträger mit rundem Ausschliff von

etwa 15 mm Durchmesser und solcher Tiefe, dass ein am darübergelegten Deckglase haftender dicker Tropfen den Grund nicht berührt.

Deckgläser, quadratisch von 18 mm, für Ausnahmezwecke auch einige mit 22 mm Seitenlänge, nicht dicker als 0,15 mm.

Vorm Gebrauch werden sie in einem Gemische von Spiritus und Ammoniak zu gleichen Teilen abgespült und mit Fliesspapier getrocknet, allenfalls mit Lederlappen vollends blank gemacht. Leider werden oft ganze Reihen von Gläsern geliefert, auf denen sich trotz solcher Reinigung ein Flüssigkeitströpfchen nicht gleichmässig zum Präparat verreiben lässt. Dagegen hilft (nicht zu weit getriebne) Erhitzung in der Flamme.

Zettnow nimmt das Wegbrennen auf einem Stück Eisenblech von 8—10 cm im Geviert, sog. Schwarzblech von mässiger Stärke vor, Kupferblech ist nicht verwendbar. Die vorher oberflächlich gereinigten Deckgläser werden auf das Blech gelegt, das man dann mit der vollen Flamme eines Bunsenbrenners einige Minuten erhitzt (C. 14. 63).

Manche Deckgläser und Objektträger werden mit der Zeit trübe, matt und hauchartig beschlagen. Das ist nach den Untersuchungen von R. Weber auf einen abweichenden Gehalt an Kalk und Alkali (Kali und Natron) zurückzuführen. Ist der Bestand an Kalk den Alkalien gegenüber zu klein, so beschlägt sich das Glas bald an der Luft, bedeckt sich mit einer feinen, tauartigen Schicht, oder einem reifähnlichen Hauch aus löslichen, alkalisch reagierenden Zersetzungsprodukten bestehend, die leicht eine Schädigung oder Zerstörung der mikroskopischen Objekte bewirken können (F. 11. 49).

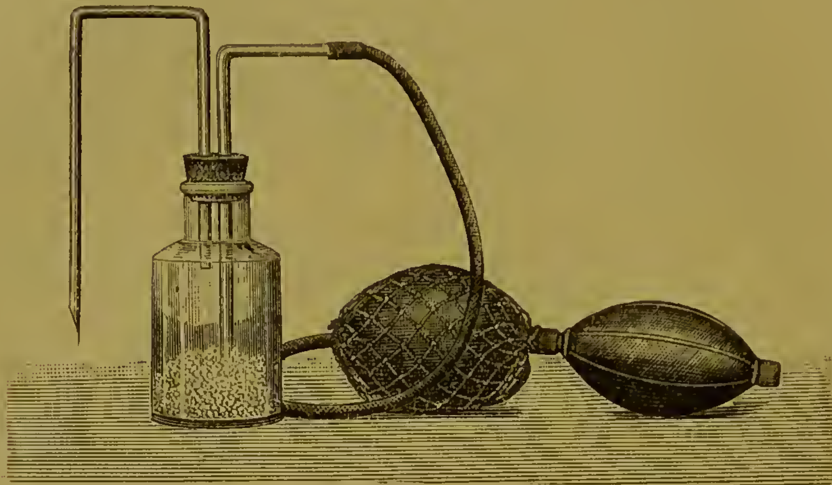
Jedes mit Oelimmersion benützte Deckgläschen wird sofort nach Gebrauch vom Oel befreit, sonst bildet sich zusammen mit Staub eine harzigschmierige Auflagerung. Das geschieht mit Benzin, Xylol, Chloroform u. dgl. Ich benütze für Deckgläser meist Chloroform. Dazu steht eine Medizinflasche mit Korkstopfen bereit, durch den ein pinseltragender Holz- oder Glasstab gesteckt ist (Fig. 18 S. 22). Um in Kanadabalsam frisch eingeschlossne Präparate dabei nicht zu beschädigen, wird das Deckgläschen an einer Ecke mit dem Finger an den Objektträger gedrückt; der Pinsel, vom überschüssigen Chloroform durch Ausschleudern befreit, wischt den Oeltropfen rasch ab. Auf dem Objektträger gefärbte Präparate, die ohne Deckglas untersucht wurden, dürfen nicht mit Chloroform in Berührung kommen, weil es der Färbung schadet; auch ein Pinsel darf nicht drüber fahren. Der Oeltropfen wird zunächst mit Filtrierpapier zum grössten Teil abgesaugt, der Rest wird mit einigen Tropfen Xylol, das in einem Tropffläschchen (Fig. 18) zur Hand sein soll, abgeschwemmt, und das Präparat trocken geblasen.

Hierzu dient eine einfache Vorrichtung, die auch bei andern Gelegenheiten zur gleichmässigen Verteilung der zu untersuchenden Flüssigkeiten und zur Lufttrockenmachung der Präparate recht gute Dienste leistet.

Eine Flasche mit weitem Halse von etwa 150 ccm Inhalt wird am Boden mit Chlorcalcium bedeckt und mit doppelt durchbohrtem Stopfen verschlossen, durch den zwei Glasröhren gehen. Die eine reicht bis nahe zum Boden und ist aussen mit einem Kautschuk-

doppelgebläse verbunden. Die andre ist doppelt rechtwinklig oder U-förmig gebogen, aussen zur Spitze ausgezogen und reicht nicht weit ins Glas hinein (nach Kühne und von mir abgeändert, Fig. 2).

Fig. 2.

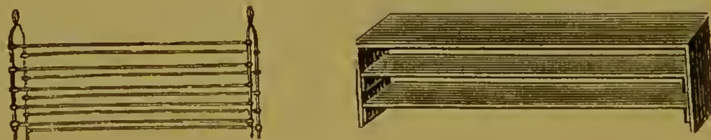


Sollen gebrauchte Deckgläser und Objektträger wieder verwendet werden, so muss bei Aufkittung mit Kanadabalsam dessen Erweichung in der Wärme und demnächstige Abwaschung in Chloroform oder Xylol erfolgen. Im übrigen werden sie alle in Sodalösung (1—2 %) ausgekocht und sind vom Boden des Topfes durch eine Einsatzscheibe getrennt; Deckgläser werden vorteilhaft in ein Säckchen von Musselin oder Leinwand zusammen eingebunden. Dem Auskochen schliesst sich noch eine gründliche Abwaschung, mechanische Reinigung und die Trocknung an. Diese wird durch Einlegung der Deckgläser erst in Alkohol, dann in Aether beschleunigt.

Quadratische Platten von weissem und schwarzem Glase von etwa 15 cm Seitenlänge dienen zum Auflegen der gefärbten und ungefärbten Präparate, eine kleine Glasglocke mit Knopf von etwa 14 cm Durchmesser dazu, sie vor Staub zu schützen.

Zum Auflegen der Objektträgerpräparate eignen sich Gestelle aus Draht oder Blech mit 4 oder 3 etwa 1½ cm voneinander entfernten Fächern von 12 oder 14 cm Länge und 5 cm Breite (Fig. 3).

Fig. 3.

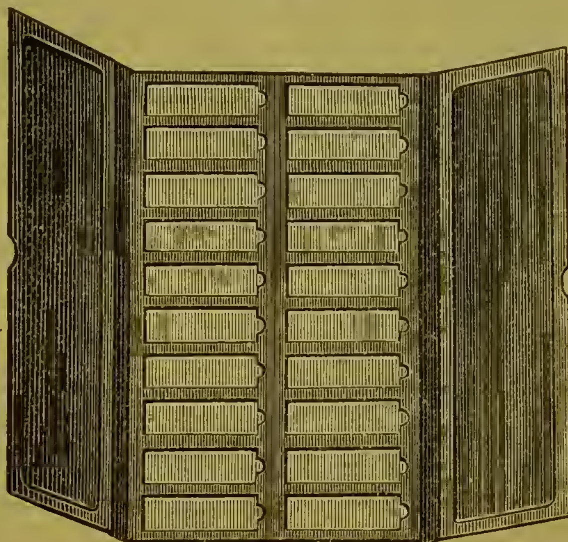


Als Einschlussmasse muss stets Kanadabalsam in Xylol gelöst vorrätig sein, am besten in Tuben, wie die Malerfarben (Fig. 18).

Die mikroskopischen Präparate werden mit Etiketten versehen, die ausser der nähern Bezeichnung Tag, Monat und Jahr der Anfertigung enthalten sollen. Die Dauerobjekte kommen in Präparaten-

kartons zu 20 Stück (Fig. 4). Darin hat man die beste Uebersicht. Die geringste gewähren die kastenförmigen Muster, in denen die Präparate übereinander liegen. Sie müssen dann auch mit Schutzleisten versehen sein, die leichter als die Papieretiketten abspringen.

Fig. 4.



Zwei nicht leuchtende Flammen gehören notwendig auf den Mikroskopiertisch. Leider ist nicht überall Leuchtgas zu haben. Dann dienen für einfache Zwecke (Ausglühung der Platinnadeln, Herstellung der Präparate u. dgl.) Spirituslampen (Fig. 5). Zu Kochzwecken aber sind Herdfeuerung, Petroleumkocher, Barthels Benzinbrenner (Fig. 6) als Ersatz für Gasheizung notwendig. Zur Ersparnis an Brennmaterial ist eine kleine Reserveflamme wohl geeignet. Einfach und billig sind die bekannten Nachtlichter, die von Kork getragen auf Oel schwimmen.

Im Handel sind jetzt kleine Blechschälchen mit zentraler Durchbohrung zu haben, in die ein kaum 1 cm langes dünnes Glasröhrchen eingekittet ist. Das Oel steigt wie in einem Docht durch Kapillarattraktion zum Flämmchen.

Um von den Reserveflammen aus andre anstecken zu können, dient ein Fidibus. Durch den Kork eines mit Spiritus gefüllten ca. 150 g-Fläschchens wird ein starker Draht geführt, aussen zu einem

Fig. 5.

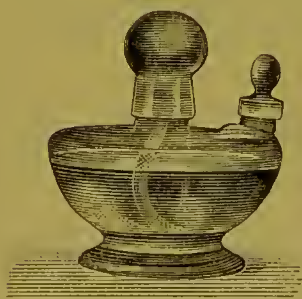
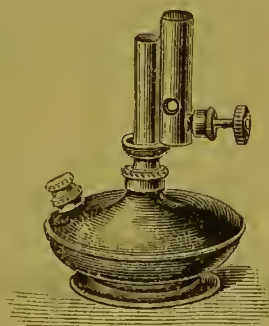


Fig. 6.



grossen Ring (Handhabe) umgebogen, am Ende leicht gerippt, oder spiralig gewunden und ein Asbestpfropf mit Draht daran befestigt, der bei Nichtgebrauch im Spiritus verweilt.

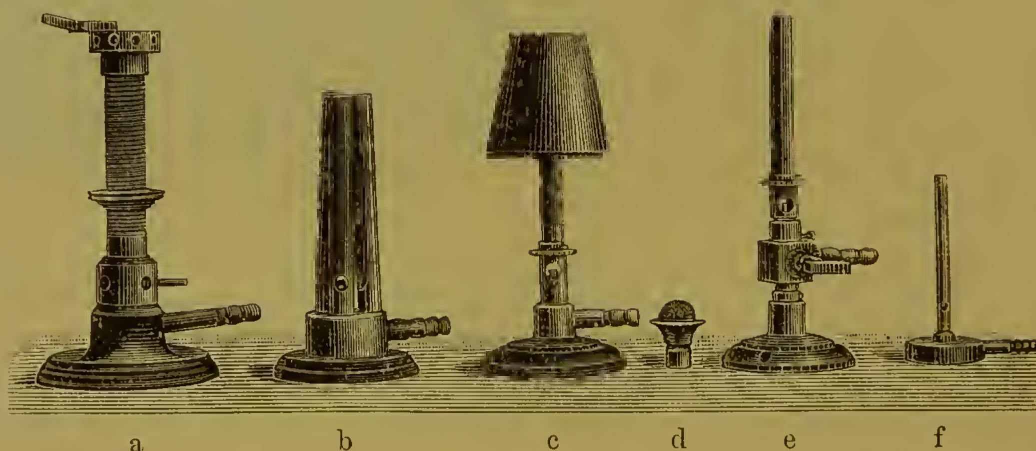
Bunsensche Gasbrenner werden jetzt gleichzeitig mit Sparflamme gefertigt; sie sind besonders für den Mikroskopiertisch zu empfehlen, zu Kochzwecken weniger, weil ihre Flamme nicht so viel Hitze gibt (Fig. 7 e).

Anfänger wollen sich mit der Einrichtung und Handhabung der Bunsenbrenner vertraut machen, um Schaden zu verhüten!

Ueber ein kurzes, ins Stativ eingelassnes Gasauslassröhrchen ist das etwa 10—11 cm lange Rohr des Brenners gesteckt, das unten seitlich zwei runde Aus-

schnitte für die Luftzufuhr besitzt. Mit Luft gemischt steigt das ausströmende Gas in die Höhe und entzündet sich erst am obern Ende. Wird ohne gleichzeitige Verminderung der Luftzufuhr der Gashahn langsam zugedreht, so entzündet sich das Gas unter charakteristischem Geräusch unten am Auslassröhrchen: die Flamme schlägt zurück. Wird nun nicht abgelöscht, so erhitzt sich der Brenner und kann unbrauchbar werden. Eine Luftregulierungshülse gehört zum Bunsenbrenner, um auch kleine, nicht leuchtende Flammen haben zu können. Fehlt sie, so kann durch Aufsetzen eines feinen Drahtnetzes (Nickeldrahtnetzkappen Fig. 7 d) auf die Hülse Abhilfe geschafft werden; dann lässt sich die kleinste nichtleuchtende Flamme erzielen, ohne ein Zurückschlagen befürchten zu müssen. Werden Kochflaschen mit kalter Flüssigkeit über die nicht leuchtende Flamme gesetzt, so beschlagen sie sich alsbald sichtlich mit dem bei der Verbrennung des Leuchtgases gebildeten Wasser so lange, bis der Flascheninhalt gehörig erwärmt ist. Dieses Wasser muss öfters abgetrocknet werden; jedes Glaskochgefäss muss auf ein feinmaschiges, völlig fehlerfreies Drahtnetz gesetzt werden; dann ist es vorm Zerspringen geschützt, auch wenn das Niederschlagwasser nicht abgewischt wird.

Fig. 7.



a ein Kronenbrenner mit Deckel, Luftregulierungshülse und verschraubbarem Tragring;
b ein dreiflammiger Bunsenbrenner;
c ein einflammiger Bunsenbrenner mit Luftregulierungshülse (unten) und Schornstein auf verschraubbarem, dreiarmigem Träger;
d eine Nickeldrahtnetzkappe zum Aufsetzen auf Bunsenbrenner;
e ein Brenner mit Sparflammeneinrichtung und Luftregulierungshülse;
f ein Reischauerscher Mikrobrenner.

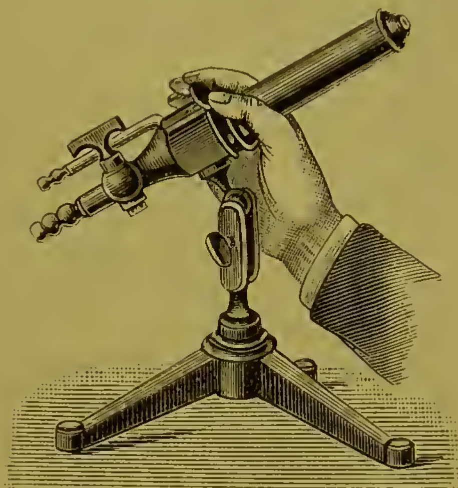
Zur Erzeugung höherer Hitze (bei Trocken- und Dampfsterilisierungsapparaten) sind grössere, drei- oder mehrfache Bunsen- oder sog. Kronenbrenner oder Heizkränze oder Brennergasöfen erforderlich. Für Stichflammen, zum Glasschmelzen u. dgl., Gebläselampen nach Bunsen oder Schober (Fig. 8), denen entweder durch Gebläsetische (Blasebälge) oder durch Wasserstrahlluftpumpen Druckluft zugeführt wird. Ich habe mich jahrelang ohne Gebläselampen beholfen. In Ermanglung eines Gasgebläses kann zu Glasarbeiten u. dgl. eine Spirituslötlampe verwendet werden.

Kommt jemand in die Lage, selbst für die Einrichtung einer Gasleitung Sorge tragen zu müssen, so berücksichtige er folgende Punkte:

Auch für einen kleinen Arbeitsraum soll die Gasuhr mindestens zehn Flammen zu speisen imstande sein. Man überlege sich von vorneherein, wohin die Tische zum Mikroskopieren, ferner die für Abdampfungen, Abkochungen, für Brutkästen, Sterilisierungsapparate u. s. w. zu stehen kommen werden. Längs der angrenzenden Wand lässt man dann etwas über Tischhöhe das zuleitende Gasrohr laufen, von dem mehrere Doppelauslässe mit Hahnen abgehen sollen. Für Abdampfungen ist ein sog. Abzug vorzusehen: ein Glasschrank in Tisch-

höhe mit vorderm Schiebefenster, in den die Gas- und Wasserleitung (auch Wasserableitung) hineingehen muss, während oben in der Wand ein zur Ventilation mit Gasleuchtflammen versehenes Abzugsrohr nach dem Freien geführt wird. Lässt sich ein Abzug nicht anbringen, so muss für Abdampfung übelriechender Stoffe etc. ein grosses blumenbrettartiges Gesimse vorm Fenster angebracht und durch den Holzteil des Fensters wenigstens ein Loch gebohrt werden, um von einem nahe liegenden Gasauslass einen Gummischlauch nach aussen führen zu können. Die Gasleitung muss an diesem Fenster vorbeilaufen. (Schutz gegen Besudelung der unten befindlichen Wand, wenn Flüssigkeiten, Säuren u. dgl. in grösserer Menge aufs Brett kommen sollten!)

Fig. 8.



Hier gleichzeitig einige Winke für die Wasserversorgung des Laboratoriums. Mangels einer allgemeinen Leitung muss ein hinreichender Vorrat an Wasser vorgesehen sein. Statt im Arbeitsraum selbst wird besser in einem höher gelegenen Stockwerk (unter Dach) ein regelmässig zu füllender Behälter mit geeigneter Rohrleitung aufgestellt. Nie lasse man dabei die Rücksicht auf die Abfuhr des gebrauchten Wassers aus dem Auge! Ist Anschluss an eine Leitung möglich, so sollen wenigstens zwei Hähne fürs Zimmer übers Abflussbecken so hoch angebracht werden, dass man bequem grössere Krüge unterstellen oder eine Wasserstrahlluftpumpe (S. 133 Fig. 75) ansetzen kann, die am besten von Metall mit Federmanometer und Vakuummeter gewählt wird. Für einfachere Verhältnisse können letztere wegbleiben oder selbst eine der billigen Pumpen von Glas genommen werden, die dann an einem Brett zu befestigen und allenfalls mit einem Quecksilbermanometer zu verbinden ist.

Neben einem Wasserauslass müssen Gefässe mit Handbürste, Seife, häufig zu wechselnde Handtücher, ferner Desinfektionslösungen (Sublimat 1‰*), Karbollösung, Lysollösung 5%) vorhanden sein. Letztere stehen besser auf einem höher an der Wand angebrachten Träger in grossen Flaschen, woraus ein Heberrohr mit Schlauch und Quetsch- oder Glashahn herabführt. Zum Geschmeidigmachen der Hände nach Sublimatgebrauch ist das beste Coldcreameinreibung, danach Abwaschen mit wenig Seifenspiritus ohne Wasser und Abwischen an trockenem Tuch.

Unter einem zweiten Wasserauslass wird, wenn nicht eigene Räumlichkeiten dafür vorhanden sind, ein grösserer Spültisch zum

*) Zur raschen Bereitung hält man vorteilhaft eine starke Lösung von 20 g Quecksilberchlorid, 10 g Kochsalz in 100 ccm Wasser in dunkler Flasche oder an lichtgeschütztem Orte vorrätig; 5 ccm davon enthalten 1 g Sublimat; für die Abmessung dient ein eigenes Messgefäss, das zu keinem anderen Zwecke verwendet wird (S. 60). Wird die verdünnte (1 oder 2‰ige) Lösung mit kalkhaltigem Leitungswasser hergestellt, so soll überdies eine Säure (Essig-, Weinsäure) zugesetzt werden. Zur Kenntlichmachung färbt man sie mit Fuchsin.

Reinigen der Gefässe mit Schmutzwasserableitung eingerichtet. Der Boden unter jedem Wasserauslass muss mit wasserdichtem Material (Linoleum, Blech) bedeckt sein.

Für die festen Abfallstoffe, die aber immer frei von Infektionsstoffen sein müssen, werden ein oder zwei grössere Gefässe, ovale Kübel von lackiertem Eisenblech mit beweglichem Bügel von starkem Draht als Handhabe aufgestellt (Ausmasse etwa 35 cm hoch, 40 cm lang, 30 cm breit).

Ausser Leitungswasser ist destilliertes Wasser in nicht zu geringen Mengen nötig. Einige Literflaschen voll sollen stets vorrätig sein.

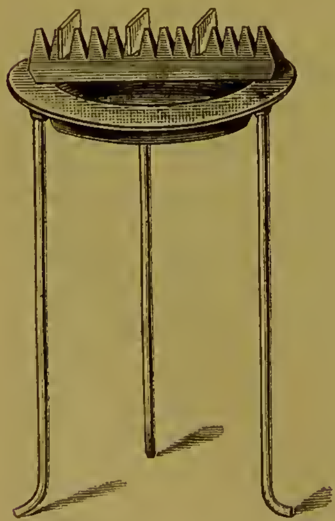
Auf dem Mikroskopiertisch steht entweder eine Spritzflasche (Fig. 104) oder es ist ein Irrigator mit destilliertem Wasser gefüllt an der Wand aufgehängt; der von ihm abgehende Schlauch trägt ein dünnes Ausflussröhrchen von Glas und ist mit Quetschhahn geschlossen. Man kann den Verschluss auch durch Einschieben eines kurzen Glasstäbchens in den Schlauch bewerkstelligen; bei Gebrauch wird der Gummi vom Stäbchen abgezogen, ohne es herauszunehmen.

Unter diesem Ausfluss steht eine kleine Schüssel zur Aufnahme des Spülwassers. Zum Abspülen der Präparate kann auch Leitungswasser genommen werden.

Filtrierpapier dient vielfach zum Trocknen der Präparate. Es wird ein Bogen in mehrfache Lagen zusammengelegt in etwa 13 × 13 cm lange Blätter zerschnitten, die nach Gebrauch alsbald verbrannt werden müssen. Es genügt jedes weisse Filtrierpapier, das teuere schwedische kommt bei den gewöhnlichen bakteriologischen Arbeiten nicht in Verwendung.

Als Trockenvorrichtungen bedarf man ausser des S. 14 erwähnten Gebläses entweder eines kleinen Trockenschrankes von etwa 18 : 13 : 13 cm Grösse auf Gestell, unter dem eine kleine Flamme, bei Gas ein kleiner Reischauerscher Brenner von ca. 7½ cm Höhe und 4 mm lichter Weite (Fig. 7 f) steht, oder man bedient sich einfach eines Dreifusses von Eisen, worauf eine mit dem gleichen Brenner erwärmte Eisen- oder Kupferplatte liegt. Auf dieser sollen die Deckglas- oder Objektträgerpräparate trocknen, ehe sie durch die Flamme gezogen und gefärbt werden. Da aber die Platte zu heiss wird, so legt man erst noch ein Drahtgewebe, dessen Ecken zu 1 cm hohen Füssen umgebogen sind, auf. Maassen nahm statt der Platte ein kleines Asbesttellerchen und stellte darauf ein kleines dachförmig gebogenes Blechstück, in dessen Giebel Spalten zur Einstellung von Deckgläsern mit der Kante nach oben (und unten) eingeschnitten sind (Fig. 9).

Fig. 9.



Für gewisse Zwecke lässt sich ein Exsikkator nicht entbehren. Man wähle solche von 13 oder 15 cm Durchmesser mit Einsatz von Porzellan oder dem billigen Drahtgewebe. Der untere Teil wird mit Chlorkalcium (oder Schwefelsäure) gefüllt. Werden mehrere Exsikka-

toren angeschafft, so soll einer mit seitlich eingesetztem Tubus und Glashahn darunter sein (Fig. 10).

Von den oben erwähnten Dreifüssen seien mehrere vorhanden, etwa von 10, 14 und 18 cm lichtem Ringdurchmesser. Die beim Kochen in Glaskolben etc. aufzulegenden

Drahtnetze sind quadratisch von 15 oder 20 cm Seitenlänge aus möglichst dünnmaschigem Eisen- oder Kupfer- (nicht Messing!) Gewebe geschnitten.

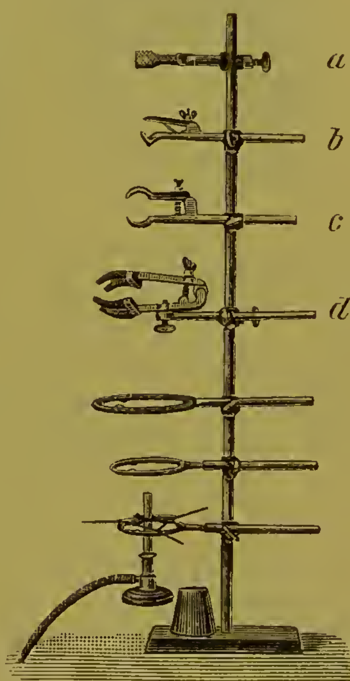
Langsames Kochen, Schutz vor Anbrennen des Inhaltes der Gefässe etc. wird durch Auflegen von Asbestpappe auf den Dreifuss erzielt. Für Sandbäder bedarf man eiserner Schalen von etwa 20 cm Durchmesser.

Kleinere Gefässe können auf die eisernen Ringe gesetzt werden, wie sie an Stativen in jedem kompletteren Laboratorium vorrätig sein sollen (Fig. 11 und 12). Ein Stativ wählt man am besten in der Zusammenstellung der Fig. 11. Im Sockel ist mitten (oder seitlich) ein Stab von 80 cm Höhe und

Fig. 10.



Fig. 11.



13 mm Dicke festgemacht. Dazu gehören drei Ringe und mehrere Klemmen (*a*—*d*).

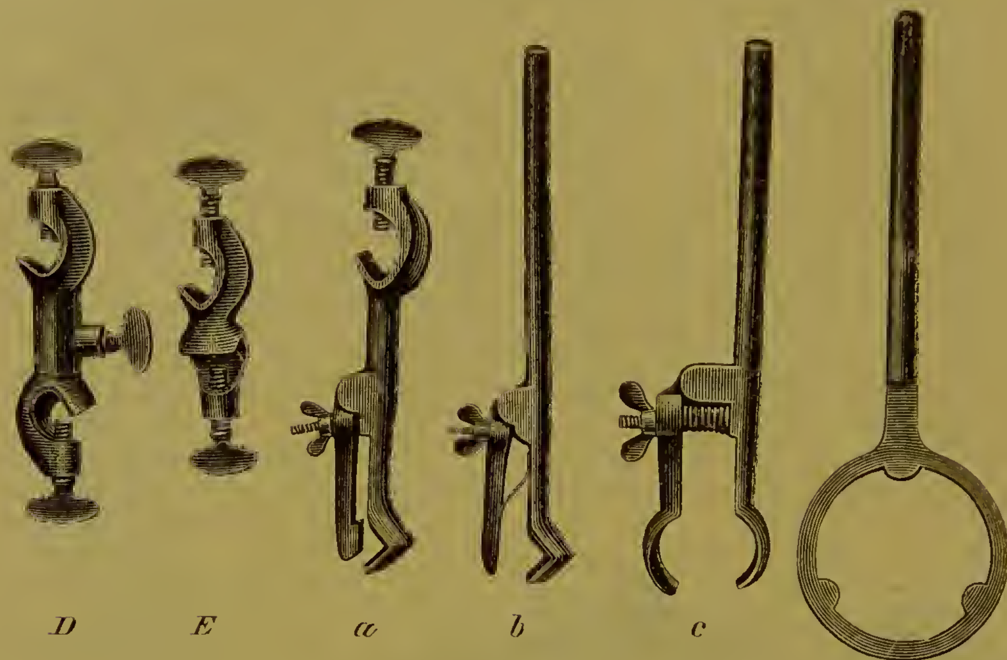
Diese Gegenstände werden mit sog. Muffen am Stativ befestigt. Man braucht wenigstens sechs (Fig. 12 *E*), darunter eine bewegliche Doppelmuffe (Fig. 12 *D*).

Die Ringe haben einen Durchmesser von 8, 10 und 13 cm. Zum Einhängen von Gasbrennern, Auflegen von Drahtnetzen als Unterlage für Kolben u. s. w. dienen sog. Drahtdreiecke mit Thonröhren (Fig. 13).

Von Klemmen sind die gebräuchlichsten Formen unter *b* und *c* abgebildet. Klemme *a* ist weniger praktisch, weil ihr Abstand vom Stativ nicht verstellbar ist, doch lässt sie sich rascher festmachen. Die Doppelklemme *d* ist zum Halten von Kühlrohren bei Destillationen, Rückflusskühlern u. dgl. verwendbar. Für gewöhnliche Zwecke reicht ein Stück; bei ihrem Gebrauch ist eine bewegliche Doppelmuffe vorteilhaft.

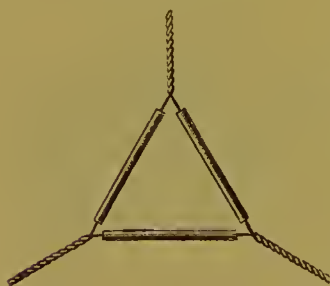
Kochtöpfe bedarf man mehrerer von verschiedener Grösse: 12, 15, 20 und 25 cm Durchmesser mit Deckel. Vorzuziehen sind die emaillierten, namentlich bei den kleineren Sorten. Zu jedem Topf sei ein durchlochtes Blech mit drei oder vier 1 cm hohen Füsschen als

Fig. 12.



Einsatz vorhanden, damit Glasplatten u. dgl. nicht mit dem Boden in unmittelbare Berührung kommen; sie würden sonst zerspringen.

Fig. 13.



Ein Wasserbad in Form eines eisernen Topfes mit Ring zum Einhängen in einen Dreifuss von 18 cm Durchmesser (Fig. 14) oder ein solches von konischer Form von ca. 25 cm Durchmesser, um mit möglichst wenig Wasser in kurzer Zeit abzudampfen (Fig. 15); bei diesem ist eine Vorrichtung für fortwährenden Wasserzufluss unbedingt nötig, bei jenem nicht. Die (kupfernen) Einlegeringe können auch bei jedem anderen Topf gute Dienste leisten.

Glaswaren*) und Zubehör. Reagensgläser, doppelt gekühlt, so dass sie wiederholtes Erhitzen vertragen, müssen in grösseren Vorräten vorhanden sein. Neben der gebräuchlichsten Grösse 160 : 16 mm empfiehlt es sich, ein engeres Muster 150 : 13 mm zu führen. Neue Gläser werden mit Leitungswasser und Wischer gründlich gereinigt, mit destilliertem Wasser nachgespült und umgekehrt zum Trocknen hingestellt. Werden Proben in Reagensgläsern gekocht, so spannt man sie in hölzerne oder metallene Klemmen (Fig. 16) oder nimmt

*) Ein sehr widerstandsfähiges Glas hat die Firma E. Leybolds Nachfolger, Cöln, für den chemischen Gebrauch unter der Bezeichnung „Stassches Glas" hergestellt (Chemikerzeitung 1892, Nr. 73).

einen Streifen aus mehrfach zusammengelegtem Papier, der am obern Ende herumgelegt zur Handhabe gedreht wird (s. Fig. 122).

An Reagensglasgestellen darf ebenfalls kein Mangel sein. Ihre Form ist bekannt; die Durchlochungen sollen etwa 18, höchstens 20 mm betragen.

Medizinflaschen von gewöhnlichem Glase zu 30, 100, 200 bis 500 ccm Inhalt.

Fig. 14.

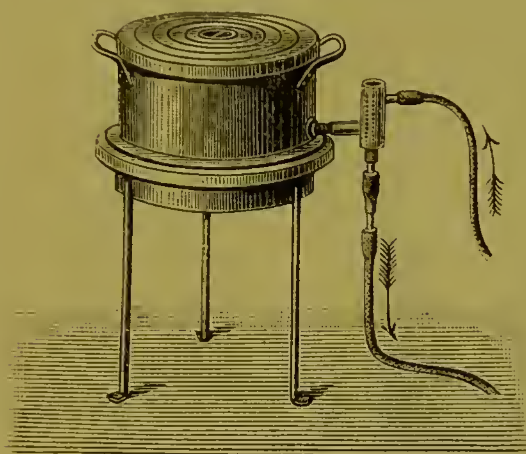
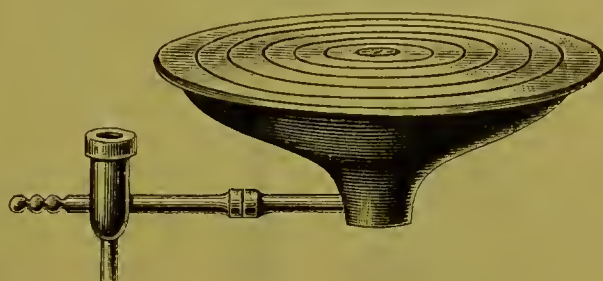


Fig. 15.



Flaschen mit eingeriebenen Stopfen, darunter einige von braunem Glase, werden in der Grösse von 150 ccm am meisten benötigt; grössere, namentlich Literflaschen, zum Aufbewahren von Spiritus, Säuren u. s. w. Geringer darf der Vorrat an Flaschen mit weitem Halse (sog. Pulverflaschen) sein; die 50 und 100 ccm-Gefässe dienen namentlich zum Härten einzelner Organteile für Schnitte, die Literflaschen zum Aufbewahren mehrerer in Musselinsäckchen vereinigter; besonders beliebt sind dazu Präparatencylinder mit eingeriebenem Stöpsel zu $^1/_2$ bis 1 Liter Inhalt.

Fig. 16.

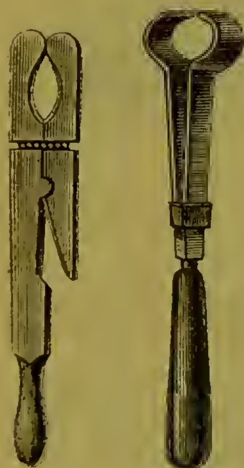


Fig. 17.



Jede Verwechslung der eingeriebenen Stopfen ist dem Verluste gleichzuachten. Die nur aus zuverlässiger Quelle bezogenen Flaschen müssen sofort beim Empfang Nummern bekommen, übereinstimmend die zugehörigen Stopfen. Dazu dient ein Diamantstift zum Schreiben auf Glas, oder eine Glasätztinte.

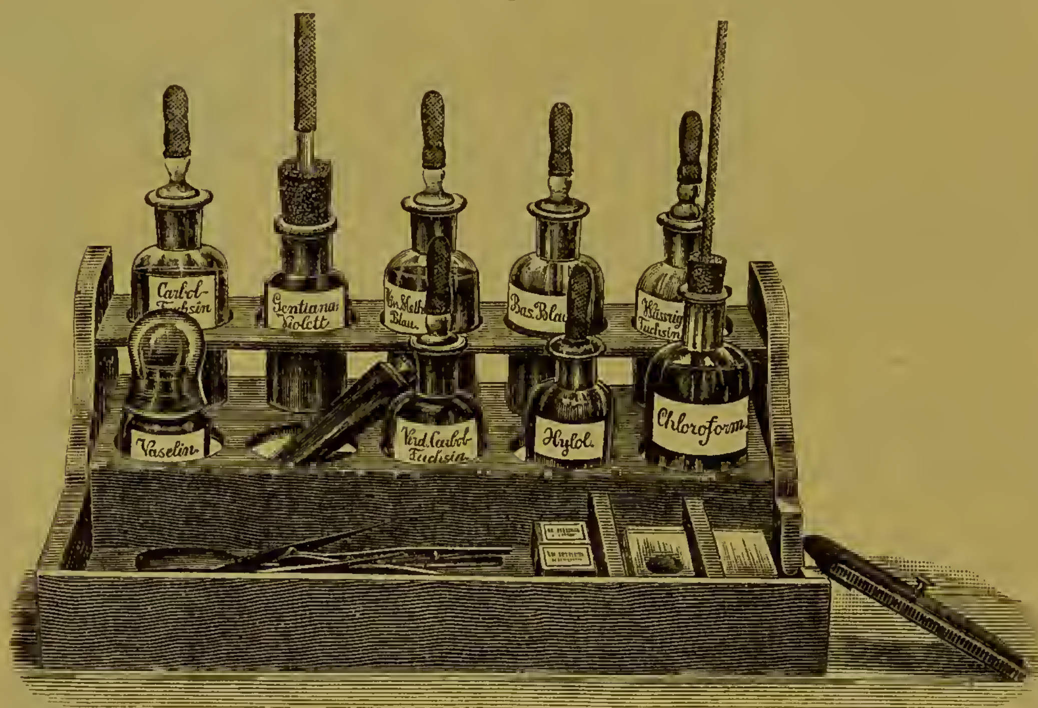
Glasätztinte kann nur in Guttaperchafläschchen aufbewahrt, und muss abseits von Glaswaren gehalten werden. Sie ist in grösseren Droguerien (Schering-Berlin) zu haben. Ihre Bereitung geschieht in Reibschalen aus Blei oder Guttapercha mit gleichen Teilen von feingeschlämmtem schwefelsaurem Baryt und Fluorammonium, die mit rauchender Fluorwasserstoffsäure oder Schwefelsäure bis zur Sirupdicke versetzt werden.

Flaschen für Farblösungen von 50 g Inhalt werden entweder aus gewöhnlichen oder besser weithalsigen Medizinflaschen hergestellt, indem durch den durchbohrten Kork eine unten nicht zu dünn aus-

gezogene Glasröhre gesteckt wird, oder man wählt Fläschchen mit eingeschliffener Pipette und mit Gummihütchen; letztere bewähren sich wegen der Saug- und Druckmöglichkeit. Für Gentianaviolettlösungen eignen sich bloss Korkstopfen wegen der klebenden Eigenschaft des Farbstoffes. Sämtliche Farblösungen nebst Glas mit Xylol und Chloroform (Flasche mit Pinsel) stehen in einem eigenen Holzgestell nach Art derer für Reagensgläser oder in Klötzen mit etwa 10 oder 12 passenden Vertiefungen.

Dazu noch ein weithalsiges sog. Balsamfläschchen von 30 bis 60 ccm Rauminhalt mit Vaseline und Pinsel und eine Tube mit Kanadabalsam (Fig. 18).

Fig. 18.



Glasstäbe und Glasröhren, eine Glasfeile und Sprengkohle gehören unbedingt zur Ausrüstung eines Arbeitsraumes.

Das Abbrechen von Glasstäben und -röhren geschieht nach vorhergegangener Einritzung mit der Feile unter einer Tuchumhüllung. Die Bruchstellen müssen stets in der Flamme rund geschmolzen werden.

Weitere Röhren (z. B. Reagensgläser) werden mit einem horizontalen, kurzen aber tiefen Feilenstrich versehen, dann wird die glühende Sprengkohle auf den Ritz gesetzt und angeblasen, bis ein Sprung entsteht; nun legt man die Sprengkohle ans Ende des Sprunges u. s. f. bis der Riss rings herumgeht.

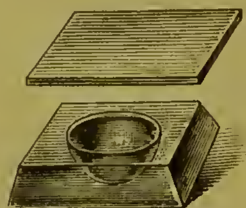
Zur Herstellung von Kapillaren wird das Röhrchen mit beiden Händen gefasst und in der Mitte erhitzt; ist das Glas zähflüssig, so wird es durch sanftes Zusammenschieben noch etwas verdichtet, hierauf aus der nichtleuchtenden Flamme genommen und jetzt erst bis zur gewünschten Dünne ausgezogen.

Aehnlich geschieht das Einschmelzen von Platindrähten in Glasstäbe. Deren oberes Ende wird verflüssigt, allenfalls in der Flamme etwas rotes Bleiglas (um das Ende widerstandsfähiger zu machen) angeschmolzen, dann wird das glühende Ende des Drahtes ausserhalb der Flamme ins weiche Glas gedrückt, und das Glas wieder etwas ausgezogen.

Behufs winkliger Biegungen befestigt man die Glasröhre in der Klemme eines Stativs und setzt an der zu knickenden Stelle eine Flamme, diesmal eine russende, leuchtende unter, bis das Glas zu sinken beginnt; jetzt kommt die

Flamme weg, die Hand verhindert ein zu rasches Sinken des Stückes um scharfe Winkel zu vermeiden. Grössere Rundung erzielt man über der breiten leuchtenden Gasflamme. Röhren mit weitem Lumen werden mit feinem Sand vor der Erhitzung gefüllt, an den Enden mit Watte verschlossen und während des Erhitzens in der Hand gehalten, um rings die Hitze wirken lassen zu können.

Fig. 19.



Uhrgläser von 4—5—10 cm Durchmesser (davon 1—2 Paare mit Uhrglashalter von Messingdraht für chemische Zwecke) werden vielfach zu Färbezwecken benützt. Zweckentsprechender wegen ihrer grösseren Stabilität sind, wenn nicht erhitzt werden soll,

Blockschälchen, quadratisch von 34 bis 40 mm Seite, 30 mm weitem und etwa 8 mm tiefem Ausschliff mit Deckplatte von Spiegelglas (Fig. 19).

Fig. 20.



Trichter in grösserer Auswahl, von 4—20 cm oberem Durchmesser. Die grösseren (davon einer von Emailblech zu nehmen) müssen beim Filtrieren in einen der Ringe des Stativs (s. o.) gesetzt werden. Eigene Filtrierstative sind nicht unbedingt erforderlich.

Spitz- oder Kelchgläser zum Absitzenlassen von Flüssigkeiten (Fig. 20), 13—19 cm hoch und von 5—7 cm oberem Durchmesser. Zum Bedecken dienen Glasschälchen von 8—9 cm Durchmesser.

Abdampfschalen von Porzellan von 5 bis 16 cm Durchmesser, allenfalls noch eine grosse von 28—30 cm Weite (Fig. 21).

Zum Anfassen heisser Schalen eine sog. Schmelztiegelzange (Fig. 22).

Doppelschalen, kleinere von 6 cm Durchmesser (der oberen Schale) und grosse sog. feuchte Kammern von 22 cm Durchmesser. (Kulturschalen s. später.)

Reibschalen mit Pistill von ca. 10 cm Durchmesser (Fig. 23a).

Achatmörser mit Pistill von ca. 5 oder 8 cm Durchmesser (nicht absolut nötig; ein Stück genügt; Fig. 23b).

Fig. 21.



Fig. 22.



Erlenmeyersche Kölbchen zu 50 und 100 ccm Inhalt (Fig. 27 unter dem Scheidetrichter).

Kochkolben zu 100, 300, 500, 750, 1000 und 1500 ccm Inhalt (Fig. 27 unter dem Trichter am Holzstativ).

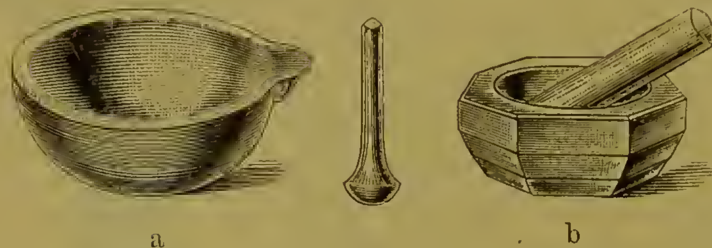
Messkolben (Fig. 24a) mit Marke und eingeriebenem Stopfen für $\frac{1}{2}$ und 1 l. Genaueres Abmessen gestatten wegen ihres engeren Halses die Stomannschen Messflaschen (Fig. 24b).

Messcylinder mit Fuss und Ausguss. Es genügt einer zu 50 und ein grösserer zu 500 ccm (Fig. 25 b), sowie ein

Mischcylinder mit Fuss und eingeriebenem Stöpsel zu 1 l Inhalt, mit einfacher oder doppelter Zahlenreihe (Fig. 25 a).

Vollpipetten zu 1, 2, 5, 10, 20, 25, 50 und 100 ccm. Die

Fig. 23.



a . b

Fig. 24.

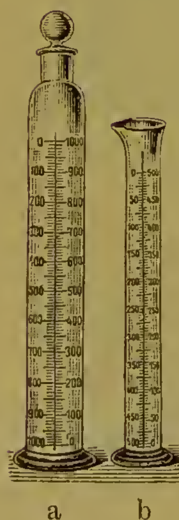


a b

mit zwei Marken versehenen gestatten ein genaueres Arbeiten. Dazu ein Gestell nach Art derer für Reagensgläser. Beim Gebrauch der Pipetten achte man auf Trockenheit des Glasrandes und der Finger!

Büretten; für einfache Zwecke mit Ansatz von Gummischlauch

Fig. 25.



a b

Fig. 26.

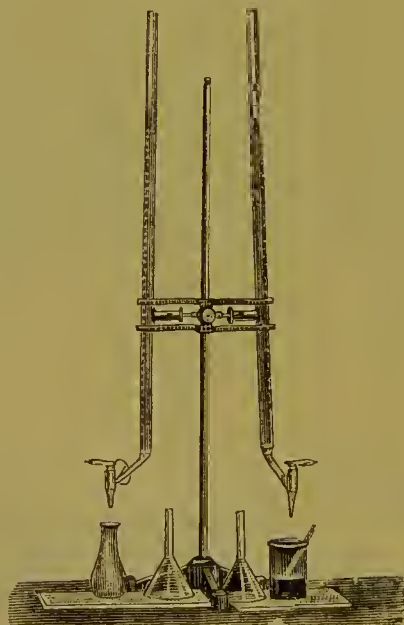
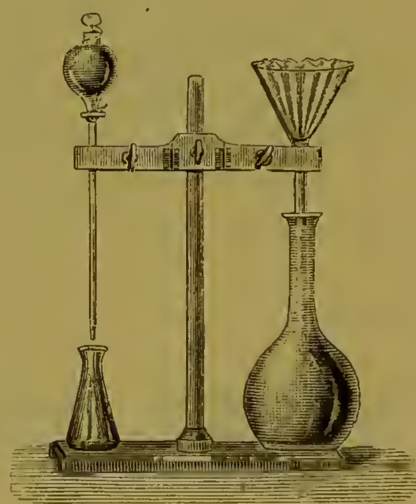


Fig. 27.



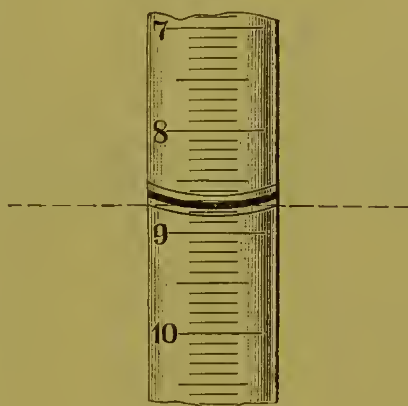
mit Quetschhahn und Ausflussspitze (Fig. 49). Für feinere Titrierung sind die Glashahnbüretten vorzuziehen; ich empfehle nur solche, bei denen der Hahn in einem von der Bürette stumpfwinklig abgehenden Rohr sitzt (Fig. 26; müssen meist eigens bestellt werden; Glashähne zum Schutze gegen Verwechselung lose anbinden!). Man braucht mindestens zwei ganz gleiche Büretten von 50 ccm Inhalt mit Teilung in $^1/_{10}$ ccm.

Bei der Auswahl der Bürettenhalter rate ich von allen komplizierten Konstruktionen abzusehen. Absichtlich habe ich in Fig. 26 einen eisernen Halter (nach Kähler) mit einer schiefstehenden Bürette abgebildet, um zu zeigen, wie mangelhaft sie sein können. Am leichtesten gelingt die notwendige Geradestellung der Büretten mit einem einfachen Holzstativ (Fig. 27), oder mit den am eisernen Stativ (Fig. 11) in beweglichen Doppelmuffen sitzenden Klemmen.

Beim Ablesen des Flüssigkeitsstandes in Büretten, Messkolben oder Pipetten bringe man das Auge in die gleiche Höhe mit dem Niveau und berücksichtige nur den untersten Punkt des dunkeln Meniskus (Fig. 28). Die Ablesung wird mit Hilfe von Bürettenschwimmern (Fig. 26, rechts in der Bürette) erleichtert.

Wagen verschiedenster Art gehören zur notwendigen Laboratoriumsausrüstung.

Fig. 28.



Zunächst eine Tafelwage von 5 k Tragfähigkeit, dazu ausser dem folgenden Gewichtssatze ein 2 und ein 1 k-Gewicht.

Eine Schalenwage, die noch 1 bis 1/10 g genau abzuwägen gestattet.

Dazu ein Gewichtssatz von 500—1 g nebst Zehntelgrammen.

Für feinere Bestimmungen ist eine chemische Wage nötig. Was C. Zeiss in Mikroskopen, das leistet G. Westphal (Celle, Hannover) in Präzisionswagen. Ich empfehle eine kurzarmige Analysenwage zu 10 g Belastung, 1/10 mg Empfindlichkeit mit Reiterverschiebung und Pinselarretur (dessen Katalog Nr. 9 b), nebst einem Satz vergoldeter Gewichte von 50 g abwärts.

Seinen Platz bekommt das Instrument auf einem möglichst wagrechten Tisch in einem gleichmässig erwärmten Raume, entfernt vom Fenster, so dass es nicht direkt von den Sonnenstrahlen getroffen wird. Bei Nichtgebrauch wird die Wage ausser von ihrem Glaskasten noch von einem Umkasten aus Holz bedeckt vor Staub geschützt.

Nicht minder wichtig ist eine Mohr-Westphalsche Wage für die Bestimmung des spezifischen Gewichtes von Flüssigkeiten. Von derselben Firma wählt man die grössere Wage Nr. 2, deren Handhabung durch die ihr beigegebene Gebrauchsanweisung leicht verständlich gemacht ist. Ein Satz von Aräometern, die schnelleres Ablesen gestatten, ist zwar billiger; sie erreichen aber die Zuverlässigkeit der Wage nicht.

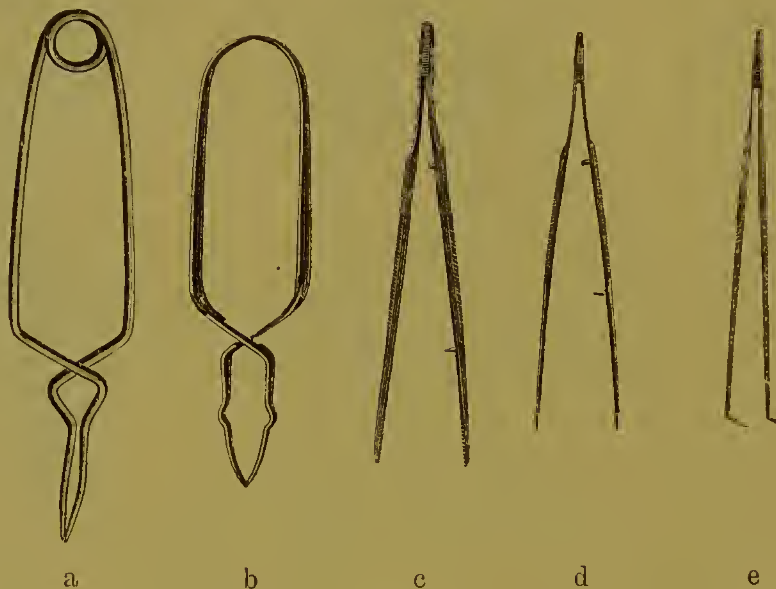
Sehr gute Anweisungen für das Arbeiten mit diesen Instrumenten gab K. B. Lehmann in seinem Werke „Methoden der praktischen Hygiene“, das in einem hygienischen Laboratorium unentbehrlich ist. Tabellen über die den spezifischen Gewichten entsprechenden Prozentgehalte von Säuren etc. finden sich in Fresenius, Quantitative Analyse. Behrens, Tabellen bei mikroskopischen Arbeiten, die viele für den Mikroskopiker wichtige Zahlenangaben enthalten. Auch Logarithmentafeln sollen in einem bakteriologischen Arbeitsraume nicht fehlen; fünfstellige genügen; ich wählte die von Greve, Leipzig bei Velhagen und Klasing (2 M.).

Thermometer nach Celsius nehmen wir entweder mit Milchglasskala oder mit Teilung auf der Röhre etwa von —10° bis zu 100°, andere bis zu 250° C. Ferner welche mit langem Stiel und in 1/2° geteilt.

Sonstige Gebrauchsgegenstände. An Pinzetten benötigen wir die gewöhnlichen anatomischen, ferner kleinere mit feinen Spitzen (Fig. 29c und d). Eine Klemmpinzette zum Halten von Wattepfropfen und dergl. zeigt Fig. 29a.

Bei der Färbung der Ausstrichpräparate auf Deckgläsern ist die Cornetsche Pinzette (von F. & M. Lautenschläger Berlin, Fig. 29b) von Vorteil, während bei der der Schnittpräparate zum Halten der Deckgläser die Kühnesche (Fig. 29e) zweckmässig ist. Die Verwendung des Spatels (Fig. 30) ist dadurch vielfach überflüssig geworden.

Fig. 29.



Als Präpariernadeln dienen Nähnadeln, die, in einem mit Schraube versehenen metallenen Griff steckend, jederzeit ausgewechselt werden können (Fig. 31).

Fig. 30.



Fig. 31.



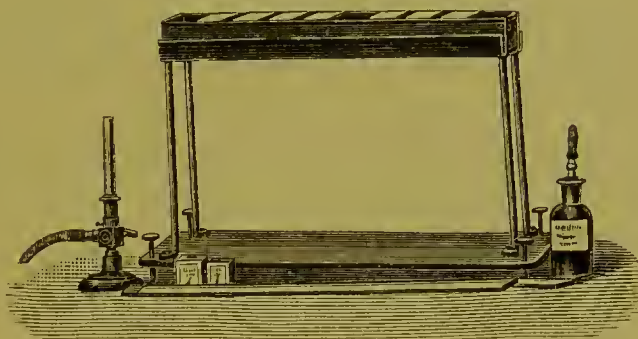
Auf einen für seinen Zweck komplizierten Deckglashalter zur Färbung unter Erwärmung (Tuberkelbacillen, Geisseln), den Ali-Cohen B. 92. 571 abbildet, möge hier lediglich verwiesen sein.

Ein Gestell für mehrere gleichzeitig in der Wärme zu färbende Objektträgerpräparate habe ich in Form eines rechteckigen Rahmens von Eisenblech angegeben, der auf vier so hohen Füssen ruht, dass die Flamme bequem mit der Hand unter den Präparaten hin und her geführt werden kann (Fig. 32). Wenn es sich um Deckgläser handelt, ist die Einlage zweier 17 mm voneinander entfernter Schienen vorgesehen, worauf die Gläschen mit zwei Ecken gelegt werden. Die Füsse sind auf einer Blechscheibe festgenietet, die mit Stellschrauben zur Erzielung möglichst horizontaler Einstellung der Präparate versehen ist.

Skalpelle, Scheren, gerade und gebogene (Coopersche).

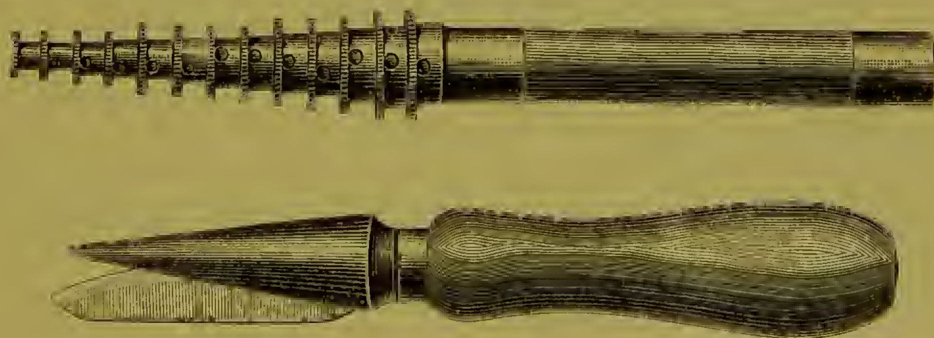
Platinnadeln aus starkem Platindraht; in der oben erwähnten Weise in etwa 18—25 cm lange Glasstäbe eingeschmolzen. Zur sichereren Befestigung kann man vor dem Einschmelzen auf das Ende des Glasstabes in der Bunsenflamme etwas Bleiglas (Rubinglas) bringen. Die Drähte werden am Ende vorteilhaft mit der Feile etwas zugespitzt; durch Umbiegen der Spitze kann man sich ein Häkchen, durch Breitklopfen eine Schaufel machen. Eine recht feine Spitze gewinnt man durch Ausziehen etwa 0,2 mm starken Platindrahtes in der Bunsenflamme so lange bis er reisst (Schiller D. 93. 639); eine sehr breite Oberfläche durch 6—7maliges Einrollen des Drahtes.

Fig. 32.



Platinösen werden statt durch kreisförmige Biegung des Endes eines starken Drahtes zweckentsprechender folgendermassen hergestellt: Ein dünnerer Draht von etwa 12 cm Länge wird in der Mitte abgebogen; beide Enden werden zusammen in den Glasstab eingeschmolzen; den Glasstab klemmt man in einem Schraubstock fest oder lässt ihn von einer zweiten Person halten. Nun nimmt man gleichsam als Knebel einen nicht zu dicken Glasstab, steckt ihn durch die Schlinge und dreht die beiden Drähte um ihre Achse. Die dadurch entstandene Oese wird auf ihr durchschnittliches Flüssigkeitsaufnahmevermögen geaicht, indem man sie etwa 20—30mal in destilliertes Wasser taucht, auf einem genau gewogenen Fliesspapier abtupft und jedesmal ausglüht. Die Gewichtsvermehrung des Fliesspapiers dividiert durch die Zahl der Auftupfungen ergibt das durchschnittliche Gewicht eines Tröpfchens (v. Sehlen).

Fig. 33.



Platinnadeln, -Oesen u. dgl. werden — das mache man sich zur festen Regel — vor und sofort nach dem Gebrauche stets in der Flamme geglüht und in einem mit passenden Einbohrungen versehenen Holzklotz aufrecht gestellt, nicht auf den Tisch gelegt! (s. Fig. 66, 101 u. a.).

Korkstopfen guter Sorte und von verschiedener Grösse werden

vorm Gebrauch weich gemacht durch eine Korkpresse oder einfacher durch Walken mit einem Stück Holz (Lineal) auf dem Tisch. Zum Anbringen von Durchbohrungen soll ein Korkbohrer von Messing nebst Korkbohrerschärfer (Fig. 33) — ein Satz von 12 Stück — vorrätig sein.

Gummistopfen für Gläser von 100 ccm und von 1 l Inhalt, darunter mehrere (grosse) mit doppelter Durchbohrung. Im Notfall lässt sich die Durchbohrung mit heissem Drahte machen.

Paraffin in Abdampfschale mit Pinsel (Fig. 86) zum luftdichten Ueberziehen von Stopfenverschlüssen u. dgl.

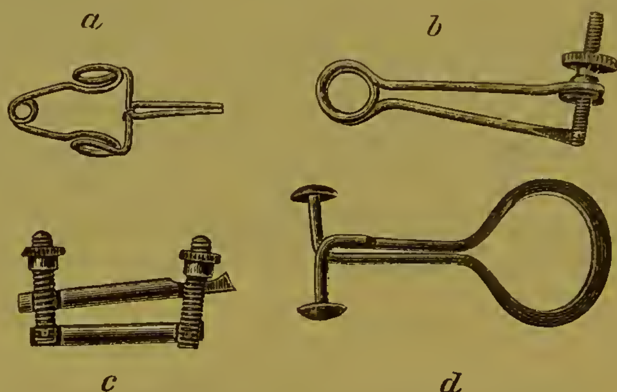
Gummikappen für die eingeschliffenen Pipetten in Farbstofffläschchen*), sowie für Reagensröhrchen. Die cylinderhutartige Form ist der flachen vorzuziehen (Fig. 34). Im Gebrauche zeigt sie die Fig. 134.

Gummischläuche, eng und weit im Lichten von 1—8 mm (Gasschläuche), auch starkwandige für Luftpumpen. Am dauerhaftesten

Fig. 34.



Fig. 35.



und besten sind die schwarzen, demnächst die roten, am billigsten die grauen. Sollen sie über Glas- oder Metallstücke gezogen werden, so versäume man die Befeuchtung mit Wasser nicht. Hart gewordene erlangen im warmen Wasser ihre Biegsamkeit wieder oder durch wiederholtes Einlegen in 5—6 %ige warme Lösungen von Ammoniak. Zur Aufbewahrung von Gummiwaren empfiehlt sich Einlegen in Salzwasser.

Quetschhähne verschiedener Form; am meisten wird die der Fig. 35 d gebraucht; ferner kleine Schraubenquetschhähne (c), grössere (b) und Klemmen (a).

Rotes und blaues Lakmuspapier (s. S. 69). Endlich:

Glaswolle, Asbestpappe, Kieselguhr, Fliesspapier, Haarpinsel, alte Leinwand, Mull, Watte — entfettete und nicht entfettete —, Heftpflaster.

Aufschriftzettel, aus gummiertem, nicht zu festem Papier zu schneiden, Schreibwaren, Faberstifte zum Schreiben auf Glas und Porzellan in blau, gelb oder rot.

---

*) Kleine, mit der Zeit entstehende Undichtigkeiten dieser Gummihülsen lassen sich durch Ueberpinseln mit Traumaticin (Lösung von Guttapercha in Chloroform) dichten.

Die Untersuchung im hängenden Tropfen.

An Stelle der früher üblichen Ausbreitung der auf Kleinwesen zu untersuchenden Flüssigkeit zwischen Objektträger und Deckglas ist der hängende Tropfen getreten; seine Herstellung ist folgende:

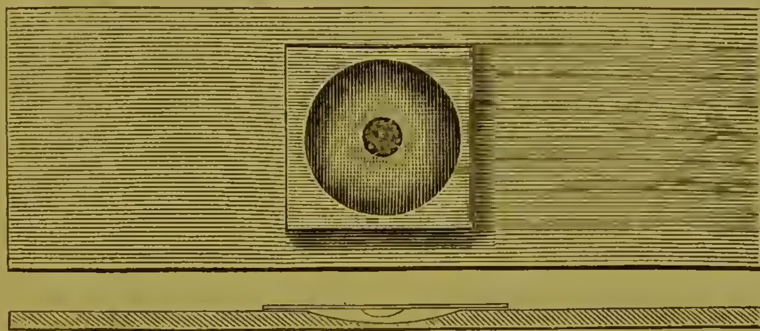
Der hohle Ausschliff eines Objektträgers wird mit Vaseline umgeben.

Ein ganz reines Deckglas wird auf eine schwarze Unterlage (Glasplatte) gelegt, so dass eine seiner Ecken den Rand der Platte überragt.

Die ausgeglühte (und wieder erkaltete) Platinöse bringt einen ergiebigen Tropfen der keimhaltigen Flüssigkeit genau in die Mitte des Deckglases.

Sollen Kleinwesen von einer Kultur auf festem Nährboden oder eine Kahmhaut, eine zusammenhängende Masse von Bakterien (sog. Zooglöa) und dgl. im lebenden Zustande untersucht werden, so kommt erst ein Tropfen ausgekochten (und wieder abgekühlten) Wassers oder sterilisierter, schwach alkalischer Bouillon aufs Deckglas. Darin verteilt dann ein frisch geglühter Platindraht das Material in möglichst geringer Spur durch vorsichtige Verreibung, ohne den Tropfen wesentlich weiter auszubreiten, während das Deckglas an einer Stelle mit der Pinzette und dgl. festgehalten ist.

Fig. 36.



Die Pinzette fasst das Deckglas an der über der Glasplatte vorstehenden Ecke und hebt es auf.

Eine rasche, aber ruhige Drehung der Hand bringt die mit dem Tropfen versehene Deckglasseite nach unten.

Endlich wird das Deckglas vorsichtig über den Ausschliff des Objektträgers gelegt, so dass es mit seinen Rändern gleichmässig in der Vaselineschicht liegt, in die es mit der aufgelegten Pinzette noch leicht eingedrückt werden kann.

Nun befindet sich der keimhaltige Tropfen, vollkommen abgeschlossen von der Aussenwelt, zwischen dem Objektträger, den er nicht berührt, und dem Deckglas, woran er hängt, in einer kleinen Kammer, deren Luft durch das verdunstende Wasser bis zum Taupunkt mit Feuchtigkeit gesättigt ist. Abkühlung des Deckglases von aussen bedingt einen Niederschlag feinsten Taues in der Umgebung des Tropfens. Diese Tautröpfchen können bei der mikroskopischen Einstellung als Anhaltspunkte dienen.

Dabei kümmere man sich zunächst gar nicht um die aufzufindenden Bakterien, sondern suche nur erst nach dem Rande des Tropfens.

Bei mangelnder Sicherheit versäume man nie, zuvörderst mit einer schwachen Vergrösserung bei engster Blende den Tropfen zu besichtigen und einen Abschnitt seiner Randbegrenzung genau in die Mitte des Gesichtsfeldes zu bringen. Alsdann wird das Trockensystem mit der Oelimmersion vertauscht und demnächst die Blendenöffnung unter dem Beleuchtungsapparat ein wenig erweitert. Nach erfolgter Einstellung (S. 8) muss der Rand des Tropfens wieder durch die Mitte des Gesichtsfeldes verlaufen, auf der einen Seite der gebogenen Linie werden, wenn vorhanden, die kleinen, rundlichen, farblosen, aber dunkel gesäumten Tautröpfchen erscheinen, während die andere Hälfte von der Flüssigkeit eingenommen ist. Nun erst wendet man das Augenmerk auf die darin befindlichen Kleinwesen, die, falls es bewegliche sind, in buntem Gewimmel sich tummeln. Zur weiteren Durchmusterung wird das Präparat derart verschoben, dass immer der Rand sichtbar bleibt und nach und nach die ganze Randzone des Tröpfchens zu Gesicht kommt. Nachher wendet sich die Betrachtung der Mitte zu, wo der Tropfen tiefer ist, und deshalb etwas ergiebigere Drehung der die Einstellung besorgenden Mikrometerschraube verlangt.

Nutall erleichterte sich die Einstellung des Tropfens, indem er vor seiner Auflegung mit Hilfe eines Drehtisches und eines Pinsels, der in eine Mischung von Lampenruss und Blutserum getaucht war, einen feinen schwarzen Ring zog. (C. 11. 539.)

Da das Wasser in dem wohlgeschlossenen kleinen Raum nicht weiter zu verdunsten vermag, so bleibt der hängende Tropfen lange Zeit untersuchungsfähig. Er kann im Brutschrank des geheizten Mikroskops zur Beobachtung der Entwickelung und Sporenbildung der Kleinwesen, wie überhaupt zu mancherlei Untersuchungen mit Vorteil verwendet werden.

Die färberische Untersuchung.
Die Herstellung einfach gefärbter Ausstrichpräparate.

Kurz zusammengefasst ist der Gang folgender:

1. Ausstreichen der zu untersuchenden Masse, erforderlichenfalls nach Verreibung mit einer Spur Wasser, auf dem Objektträger oder Deckglase in möglichst dünner Schicht.
2. Vollkommen lufttrocken werden lassen.
3. Dreimal durch die Flamme ziehen.
4. Färbung mit Anilinfarblösung 3—30 Sekunden.
5. Vorsichtige Abspülung mit Wasser.
6. Trocknung mit Filtrierpapier (Deckgläser nur auf der präparatfreien Seite!).
7. Deckglas mit dem an der Präparatseite haftenden Wassertropfen auf einen reinen Objektträger legen.
8. Untersuchung erst mit schwacher Vergrösserung, dann mit Oelimmersion.

Wenn dabei das Präparat als brauchbar für die Aufbewahrung befunden wird:

9. Entfernung des Oeltropfens (S. 13).

10. Entfernung jeder am Präparat noch befindlichen Spur von Wasser.
11. Einbettung in Xylolkanadabalsam.
12. Bezeichnung.

Erläuterungen zu den einzelnen Punkten:

1. Die zum Ausstrich benötigten Gläser müssen blank, frei von Staub, Fett u. dgl. sein (S. 13). Deckgläser sind kostspielig. Sparsamer arbeitet man mit Objektträgern (Neissers Verfahren Z. 4. 174) und hat dabei zweifachen Vorteil. Erstens ist dem Durchtritt der Lichtstrahlen ein gleichmässigerer Weg geboten, da eine Glasschichte (Deckglas) und eine Lage Wasser oder Kanadabalsam wegfällt; zweitens ist jederzeit Gelegenheit gegeben, eine Um- oder Nachfärbung vorzunehmen, was bei in Balsam eingebetteten Deckglaspräparaten recht umständlich und für das Objekt unvorteilhaft ist. Objektträgerausstriche lassen sich ebenso leicht aufbewahren. Nach der Untersuchung wird das Oel entfernt, wie auf S. 13 angegeben.

Bakterienhaltige Flüssigkeiten, Wasser, Blut, Eiter, Schleim u. dgl. werden mit einem geglühten Platindraht oder einer sehr kleinen Oese entnommen und in dünnster Schicht auf dem Glase ausgebreitet. Noch nicht in Flüssigkeit befindliche Mikroorganismen erfordern den Zusatz eines kleinen Wassertröpfchens. Teilchen von Kolonien z. B. schwemmen wir auf einem Objektträger zunächst in einem Tropfen Wasser auf; neben diesen haben wir noch einen oder zwei andere Tropfen gelegt, falls wir Verdünnungen für nötig erachten. Von der letzten Verdünnung wird das zu färbende Präparat gemacht, indem man mit feiner Platinöse eine Spur entnimmt und auf einem neuen Objektträger oder ein frisches Deckglas ausstreicht, worauf der Platindraht wieder geglüht und bei Seite gestellt (nicht gelegt!) wird.

Es ist zu vermeiden, beim Ausstreichen den Rand des Deckgläschens zu erreichen; häufig sammeln sich gerade am Rande die Kleinwesen an und würden so dem Nachweise leichter entgehen. Auch auf Objektträgern legt man keine grössere Ausstrichfläche an. Anfänger machen hier sehr oft Verstösse. Ihre Ausstriche geraten gewöhnlich zu massig, zu umfangreich und zu dick, so dass man schon mit blossem Auge die Striche der Platinnadel wahrnimmt, aber unterm Mikroskop mit der Immersion Einzelheiten kaum mehr zu erkennen vermag. Je reichlicher Kreuz- und Querstriche gemacht werden, desto wirrer kommen die natürlich zusammengelagerten Zellen durcheinander, desto mehr werden sie in ihrem Aussehen geschädigt, verzogen und zerrissen.

Die nicht selten unterm Mikroskop zu sehenden kometenschweifartigen Gebilde in gewebszellen- besonders leukozytenreichen Präparaten rühren von solch einer fehlerhaften Behandlung her, es sind nichts anderes als ausgestrichene Zellkerne. Ihre schwanzförmigen Ausläufer liegen in der Richtung des gemachten Ausstriches und sind deshalb teils gerade, teils gebogen. (Solche finden sich im Photogramm der Influenzabazillen aus Sputum Taf. III Nr. 19.)

Weniger vorteilhaft ist es, das zu untersuchende Material zwischen zwei Deckgläsern zu zerdrücken und sie dann voneinander zu ziehen. Es bleiben

oft die meisten Teilchen am Rande sitzen; ferner besteht die Möglichkeit, die Finger zu beschmutzen oder zu infizieren; auch gelingt das Auseinanderziehen nicht immer gut, die fassenden Pinzetten brechen Teilchen des Deckgläschens ab, oder die Objektschicht wird streifig und enthält bald dickere, bald dünnere Lagen. Der Gewinn von gleichzeitig zwei Präparaten fällt dabei weniger ins Gewicht.

2. Die Trocknung lässt man gehörig an der Luft erfolgen. Beschleunigt wird sie durch das Gebläse (S. 14) oder durch vorsichtige Erwärmung (S. 18).

3. Die Erhitzung des bereits getrockneten Präparates soll die Schichte am Glas fixieren und das Eiweiss zur Vermeidung störender Niederschläge bei der Färbung „homogenisieren". Dies geschieht am geeignetsten, indem man es dreimal durch die nicht leuchtende Flamme zieht ungefähr mit der Schnelligkeit, als man, wie v. Rindfleisch sagte, Brot schneidet. Die Präparatseite sieht dabei stets nach oben. Man beschreibt einen wagrechten oder senkrechten Kreis von etwa $^1/_3$ m Durchmesser. Fasst man die Gläser mit den Fingern, so wird die Erhitzung niemals zu weit getrieben werden. Der Sauberkeit halber aber benützt man besser Pinzetten.

4. Zur Färbung der Bakterien eignen sich weitaus am besten die Lösungen von kernfärbenden, basischen **Anilinfarben.**

Mit Ehrlich unterscheiden wir basische und saure Anilinfarben, je nachdem in den übrigens neutralen Körpern die färbende Komponente eine Basis oder eine Säure ist. Zu den basischen gehören: Methylenblau, Chlorhydrinblau, Safranin, die Rosaniline, wie Fuchsin, Dahlia, die Pararosaniline, wie Rubin, Krystallviolett (= Hexa-Methylviolett P), Methylviolett B, Gentianaviolett (= benzyliertes Methylviolett, welches mit Dextrin gestellt ist), Viktoriablau, Methylgrün, Auramin, Bismarckbraun, Vesuvin etc. Zu den sauren: Fluorescin, Eosin, Phloxinrot, Aurantia, Nigrosin, Säurefuchsin, Säureviolett, Benzoëpurpurin, Tropäolin, Congo u. a. (nach Hueppe, Methoden etc. S. 105; s. a. Unna C. 3. 22).

Sie werden als Pulver (nur von zuverlässigen Spezialgeschäften bezogen) in Glas- oder Blechgefässen aufbewahrt und zunächst zur Herstellung von Mutterlösungen, von konzentrierten alkoholischen Lösungen verwendet.

Man nimmt von

Fuchsin	15 g	in 100 ccm Spiritus
Methylenblau	5 „	„ „ „ „
Gentianaviolett	7 „	„ „ „ „

Die Farbkrystalle sollen keinesfalls mit der Wagschale in Berührung kommen. Zwei gleich gross geschnittene Papiere, das eine zum Tarieren des andern bestimmt, sind zur Wägung nötig.

Die abgewogene Menge schüttet man vom Papier in eine mit Korkstopfen versehene Flasche, übergiesst sie mit der nötigen Menge Spiritus, setzt den Stopfen auf und schüttelt gründlich durch. Dann bleibt die Mischung stehen, bis sich der überschüssige Farbstoff auf den Boden der Flasche gesetzt hat.

Daraus werden später die zum färberischen Gebrauch bestimmten wässerig-alkoholischen Lösungen hergestellt. Man verdünnt in einem wohl gespülten und gereinigten Farbfläschchen (Fig. 18 S. 22) ungefähr:

1 Teil konzentrierter alkoholischer Mutterlösung
mit 4 Teilen (neutralen) destillierten Wassers.

Filtrieren ist anzuraten, jedoch nicht unbedingt nötig, namentlich wenn immer darauf geachtet wird, dass der allmählich sich bildende Bodensatz nicht aufwirbelt.

Von jeder der genannten drei Farben soll eine wässerig-alkoholische Lösung stets zur Hand sein; sie hält sich lange und braucht erst ersetzt zu werden, wenn sich eine Abnahme ihrer Färbekraft bemerklich macht.

Vor der Anwendung kann die Filtration am einfachsten in der Weise stattfinden, dass man das Präparat mit einem kleinen Stückchen Filtrierpapier in ein- oder mehrfacher Lage bedeckt, darauf den Farbstoff träufelt und schliesslich alles abspült (Swiatecki C. 12. 247).

Die jedesmalige Wahl des Farbstoffes hängt vom Präparate, aber auch von persönlicher Vorliebe ab.

Gentianaviolett färbt recht kräftig, Bakterien sowohl wie Grund.

Fuchsin ebenfalls. Eine störende Färbung des Untergrundes macht sich schon geltend, wenn statt in einer wässerigen Aufschwemmung die Bakterien mit flüssiger Nährlösung (Bouillon), in der sie gewachsen, zum Präparat genommen worden sind, noch mehr bei Ausstrichen von Gewebssaft, namentlich nicht sehr dünnen. Andrerseits hat das Fuchsin nicht zu bestreitende Vorteile; mit keiner andern Farbe gelingt z. B. die Darstellung von Cholera- und andern Vibrionen und Spirillen so anschaulich, und gewisse Bakterien, wie die Stäbchen der Mäuseseptikämie, des Schweinerotlaufes, nehmen eine andere Farbe als Violett oder Rot kaum an.

Methylenblau hat seinen Vorzug in der auswählenden Färbung der Bakterien und Zellkerne, es lässt den übrigen Untergrund zurücktreten; für Gewebssaftausstriche eignet es sich also vornehmlich. Seine unangenehme Seite ist die Unbeständigkeit in Dauerpräparaten; die blau gefärbten blassen unter allen am ehesten ab.

Eine Steigerung der färbenden Kraft des Methylenblau wird durch Alkalizusatz bewirkt. Koch hat ihn zuerst angegeben und 0,5 ccm konz.alkoh. Methylenblaulösung mit 100 ccm einer Kalilauge 1 : 10000 versetzt. Löffler vermehrte später den Zusatz der Farbstofflösung auf 30 ccm.

Die Herstellung der vielgebrauchten, der Kürze halber Löfflers Blau oder basisch Blau*) bezeichneten Zusammensetzung ist zwar einfach, erfordert jedoch einige Aufmerksamkeit.

Wir machen uns zunächst eine 10 %ige Lauge aus einem guten, chemisch reinen Präparate von Kalium- oder — was ich vorziehe — Natriumhydrat (s. S. 67 Anm.); nur für die kurze Zeit der Entnahme, die mittels Pinzette geschehen muss, darf das Vorratsglas geöffnet sein, dann wird der wohlschliessende Stopfen sogleich wieder aufgesetzt und alsbald nach der Wägung, die wegen der Wasser anziehenden Kraft des Natriums (Kaliums) rasch zu erfolgen hat, mit einem Paraffinüberzug versehen**).

Die Wägung des Stückes Natriumhydrat geschieht auf einem Blatt

*) In diesem von mir gewählten Ausdruck bezieht sich basisch auf die Lösung, nicht auf den Farbstoff selbst.

**) Besser ist es, durch den wohlschliessenden, luftdicht eingefügten Stopfen des Vorratsglases eine mit Chlorkalcium gefüllte Absorptionsröhre zu führen.

Papier, das durch ein gleich grosses auf der andern Wagschale tariert ist. Danach lässt man es vom Papier in ein Kölbchen gleiten (vorsichtig, damit der Glasboden nicht zerbrochen wird!). Gesetzt, es habe 3,7 g gewogen, so giessen wir nunmehr 37 ccm destillierten Wassers darüber, das vorher auf seine Neutralität geprüft worden ist.

Es kam mir wiederholt vor, dass die fertige Farblösung ihren Dienst versagte, bis sich herausstellte, dass das von unserm Destillierapparat gelieferte Wasser eine schwach saure Reaktion hatte, die sich mit Leichtigkeit durch Auskochen beseitigen liess. Die Prüfung geschieht, indem eine grössere Menge, etwa 50—100 g des Wassers mit 1 Tropfen Phenolphthaleïn- oder Rosolsäurelösung (S. 69) versetzt wird. Der erste Tropfen einer 0,4 %igen (= 1/10 Normal) Lösung von Natriumhydrat muss sofort eine bleibende Rotfärbung hervorrufen. Seitdem benütze ich zu allen empfindlicheren Mischungen nur gekochtes destilliertes Wasser.

Von der gefertigten 10 %igen NaHO-Lösung enthält jeder Kubikcentimeter 0,1 g des fixen Alkali. Ich gebe davon in einen Messcylinder 5 ccm, füge 45 ccm neutralen destillierten Wassers zu und bekomme auf diese Weise eine 1 %ige Lösung*) (davon 1 ccm = 0,01 g NaHO), die in ein zweites Kölbchen behufs Mischung umgegossen wird.

Schliesslich fülle ich in eine Flasche von 150 ccm Inhalt 99 ccm neutralen destillierten Wassers und setze mit Hilfe einer Pipette 1 ccm der 1 %igen NaHO-Lösung zu, dann habe ich eine Lösung von 1 : 10000.

In dem wohl gereinigten Messcylinder messe ich mir dann noch 30 ccm konzentrierter alkoholischer Methylenblaulösung ab und giesse sie in jene Flasche. Die gut umgeschüttelte Mischung kann filtriert werden. Sie hält sich monatelang.

Wodurch in letzter Linie die hohe Leistungsfähigkeit der alkalisierten Methylenblaulösung bedingt ist, gilt noch nicht als sicher ausgemacht; möglich, dass die auflockernde Wirkung des Alkali gegenüber der Bakterienmembran eine Rolle spielt.

Die Färbekraft unserer Tinktionsmittel lässt sich aber auch noch durch andere, als Beizen wirkende Stoffe steigern, so durch Anilinöl, Phenol u. a.

Vorzügliches leistet eine Farbstofflösung, die mit Anilinölwasser nach Ehrlich bereitet ist:

In ein Reagensglas wird etwa bis zur halben Höhe destilliertes Wasser gegeben, dazu soviel Anilin(öl), dass der Grund des Röhrchens ausgefüllt ist. (Je heller das Oel desto besser, Roux J. 7. 665.) Nun wird etwa 10 Minuten hindurch recht oft und gründlich geschüttelt und die trübe Emulsion auf ein vorher mit destilliertem Wasser gehörig angefeuchtetes Filter gegossen. Sobald das Wasser vollkommen klar abfiltriert ist, kommt der Trichter weg, damit später nicht Oeltropfen nachfiltrieren. Soll eine grössere Menge des übrigens nicht lange haltbaren Anilinwassers bereitet werden, so nimmt man 4 Teile Anilin zu 100 Teilen destillierten Wassers.

---

*) Wer Normalnatronlauge vorrätig hat, vermischt 25 ccm davon mit 75 ccm neutralen destillierten Wassers und erhält so die 1 %ige Lösung.

Zu je 100 ccm dieses Anilinwassers setzen wir nach der Ehrlichschen Vorschrift 11 ccm konzentrierter alkoholischer Farbstofflösung. So genau kommt es aber auf das Mischungsverhältnis nicht an. Mehr Farbstofflösung zu verwenden, empfiehlt sich nicht, im Gegenteil, wir ziehen meist eine geringere Undurchsichtigkeit vor: man träufelt so lange von der konzentrierten alkoholischen Farblösung ins Anilinwasser, bis auf der Oberfläche ein irisierendes Häutchen bleibt.

Die fertige Anilinwasserfarbstofflösung wird zweckmässig nochmals filtriert. Günther empfiehlt, sie zur Vermeidung von Niederschlägen im Präparat 24 Stunden ruhig stehen zu lassen. Länger als einige Tage ist sie aber nicht zu gebrauchen.

Am deutlichsten sind die allmählich eintretenden Veränderungen zu erkennen, wenn von demselben Anilinwasser, das zur Bereitung der Tinktionsflüssigkeit gedient hatte, eine Probe ohne Farbe unter den gleichen Bedingungen aufbewahrt wird. Das ursprünglich klare Anilinwasser trübt sich mit der Zeit.

Das Phenol hat sich in der Ziehlschen Karbolfuchsinlösung als ein die Färbung vorzüglich förderndes Mittel erwiesen. Vorschrift:

Fuchsin	1,0 g
Alkohol	10,0 ccm
Acid. carbol. liquefact. .	5,5 ccm
Aq. dest..	84,5 ccm

Die Mischung bleibt erst 24 Stunden stehen, ist dann jederzeit zu verwenden und monatelang haltbar. Präparate, die nicht, wie bei Tuberkelbazillenuntersuchungen üblich, eine Entfärbung mit Säure und Alkohol durchmachen, bleiben sehr leicht überfärbt. Deshalb lässt man die Karbolfuchsinlösung, die bei empfindlichen Bakterien eine Lückenbildung (Schrumpfung des Zellinhaltes) bedingt, unter gewöhnlichen Verhältnissen nur ganz momentan wirken und spült sie sogleich wieder ab, allenfalls unter Zuhilfenahme der entfärbenden Wirkung des verdünnten Alkohols (S. 45), oder man verdünnt sie entsprechend mit Wasser um das 2—20fache (R. Pfeiffer) und färbt dann entsprechend länger, bei Verdünnung 1 + 2 Wasser etwa 20 Sekunden, bei 1 + 10 oder 20 Wasser 5—10—15 Minuten.

Karbolmethylenblau empfahl Kühne als Universalfärbungsmittel:

Methylenblau 1,5 wird mit
Alkohol 10,0 in der Reibschale sanft verrieben unter allmählichem Zusatz von 5 % Karbolsäurelösung 100,0.

In manchen Fällen wird die Beizung der Färbung vorangeschickt, z. B. bei der Darstellung der Geisseln. Die dabei verwendete „Farbflotte" verdient wegen des zur Anwendung gelangenden neuen Prinzips hier schon Erwähnung.

Nach Unnas Darlegungen vereinigen sich Farbstoffe dann besonders leicht mit der Zellsubstanz, wenn sie, wie z. B. durch Alkalizusatz in gewisser Konzentration zu erreichen, nicht mehr vollkommen gelöst, aber auch noch nicht ausgefällt sind, wenn sie sich in der Vorbereitung zur Ausfällung, im Stadium der sog. Schwebefällung befinden. Löffler machte sich diese Thatsache bei der Geisselfärbung zu nutze und liess nicht nur vor der Färbung eine Beize in Gestalt einer Ferritannattinte einwirken, sondern setzte dem Färbemittel (Fuchsin)

ausser dem Anilinöl noch sehr verdünnte (1 $^0/_{00}$) Natronlauge zu, erzielte damit eine Schwebefällung und brachte so die Lösung auf den Gipfel der Leistungsfähigkeit.

Das Verfahren bei der Färbung von Deckglas- oder Objektträgerpräparaten ist einfach. Deckgläser, die vom Augenblick der Lufttrocknung an während des ganzen Vorganges, bis sie auf die Objektträger kommen, am bequemsten von der Cornetschen Pinzette gefasst bleiben, werden mit dem Farbstoff beträufelt, so dass sie schwappend bedeckt sind; dabei darf niemals die farbstoffhaltende Pipette mit dem Präparate in Berührung kommen! Die Dauer der Einwirkung beträgt durchschnittlich 10—15 Sekunden, bei Anwendung von Karbolfuchsin 1 bis höchstens 3, bei verdünnten Farbstofflösungen und schwerer färbbaren Bakterien bis zu 30 Sekunden, bei stark verdünntem Karbolfuchsin bis zu 15 Minuten (abgesehen ist dabei von Ausnahmen, wie Tuberkelbazillen, Rotzbazillen u. a.). Objektträger brauchen nicht in ihrer ganzen Ausdehnung mit der Farbstofflösung bedeckt zu sein. Sie werden mit gewöhnlichen anatomischen Pinzetten gefasst.

5. Die Abspülung erfolgt über einer Schüssel oder Schale mittels einer Spritzflasche oder eines Irrigators, gewöhnlich so, dass bei Deckgläschen zunächst die präparatfreie Seite vom Wasserstrahl getroffen und dieser erst zum Schluss über die Ausstrichseite vorsichtig geleitet wird, damit eine Abschwemmung der durch die Farblösung an und für sich schon etwas gelockerten Schicht vermieden ist. Namentlich den alkalischen Färbemitteln kommt eine auflösende Eigenschaft zu, und nicht alle Bakterienarten lassen sich gleich fest am Glase fixieren; manchmal ist dann von dem Vorhandensein einer gefärbten Schichte nichts mehr oder nur wenig zu erkennen und man muss acht geben, die beiden Seiten des Deckglases nicht zu verwechseln; mit der Cornetschen Pinzette, die an dem einen Schenkel eine Marke trägt, ist das nicht leicht möglich. Sollte es aber vorgekommen sein, so ritzt man an vorhandenen gefärbten Stellen leicht mit der Nadel, um sich zu vergewissern. Bei Objektträgern lässt man den Wasserstrahl entfernt vom Ausstrich auftreffen.

Bei Verwendung der so sehr leicht überfärbenden Karbolfuchsinlösung gelingt es durch Wasserspülung oft nicht mehr, eine Ueberfärbung zu beseitigen. Ich habe es dabei für gut, für manche Zwecke sogar für vorzüglich befunden, die Wasserspülung durch vorübergehendes Eintauchen in verdünnten (50 bis 60%igen) Spiritus (s. S. 45) zu unterbrechen. Ich färbe den Ausstrich eine oder mehrere, bei empfindlichen, durch Phenolwirkung schrumpfenden Bakterien höchstens drei Sekunden mit Karbolfuchsin, dann spüle ich den Farbstoff mit Wasser ab, tauche das Präparat für eine Sekunde in den verdünnten Alkohol, leite nochmal einen Wasserstrahl darüber und besichtige es, getrocknet, unterm Mikroskop. Reichte die Alkoholbehandlung zur Erzielung eines befriedigenden Bildes nicht aus, dann wird sie in der gleichen Weise wiederholt u. s. f., allenfalls dazwischen eine Färbung mit verdünntem Karbolfuchsin (1 + 2 Wasser) eingeschaltet und so ausprobiert, bis die Bakterien in der besten Weise vom Untergrund sich abhebend gefärbt sind. Der Vorteil, den dieses Verfahren vor andern, auch vor der

längeren Färbung mit stark verdünntem Karbolfuchsin voraus hat, liegt in der Vermeidung von Niederschlägen, hauptsächlich aber darin, dass man die färberische Darstellung beliebig abstufen kann und in der Hand hat.

6. Zur Trocknung werden Objektträger mit den Fingern gefasst, erst an der Unterseite mit Fliesspapier abgewischt und dann zwischen mehreren Lagen Filtrierpapier beiderseits vom Wasser befreit, mit dem Gebläse vollends getrocknet und auf der Ausstrichstelle mit einem Tropfen Tauchöl versehen; das hindert nicht, sie zunächst mit einem schwachen Trockensystem zu betrachten, was namentlich nötig ist, wenn man vom Ausstrich mit blossem Auge nicht viel erkennen kann. Deckgläser werden ebenfalls an den Kanten zwischen zwei Fingern gehalten und an der Unterseite mit Fliesspapier getrocknet. Das überschüssige Wasser wird von der Ausstrichseite durch das Papier weggesaugt, der Rest bleibt haften und dient dazu, das Deckglas auf dem Objektträger zu halten. Ist es mit der Präparatseite darauf gelegt, so werden einige Lagen Filtrierpapier sanft aufgedrückt, um Ueberschusswasser abzusaugen.

Für die weitere Behandlung genügen die eingangs gegebenen Bemerkungen Nr. 8—12. Was die Bezeichnung betrifft, so sollen auf den aufgeklebten Papierstreifen ausser dem Namen des Präparates Notizen über die Herkunft, Art und Dauer der Färbung und Zeit der Anfertigung mit Angabe von Tag, Monat und Jahr verzeichnet werden.

Alle bei der Herstellung eines Bakterienpräparates zur Verwendung gekommenen Gegenstände müssen desinfiziert werden, Platindrähte durch Ausglühen, Pinzetten durch Kochen in 1%iger Sodalösung, Fliesspapier durch Verbrennen. Die nicht zu Dauerpräparaten bestimmten Objektträger und Deckgläser werden mit Pinzetten, nicht mit den Fingern, voneinander abgezogen und ebenfalls ausgekocht (S. 14). Spülwasser wird vor dem Weggiessen mit einem Desinfiziens (Sublimatlösung od. dgl.) versetzt.

Einige Winke für Improvisation. Auch in der Praxis lassen sich mit geringen Hilfsmitteln gefärbte Deckglaspräparate gewinnen. Die Deckgläser werden zwischen die eingeknickten Blätter einer Visitenkarte in der Verbandtasche, ein einzelnes unter dem Rückendeckel der Taschenuhr eingeführt. Statt der Platinnadel dient eine Stecknadel, die über dem Cylinder einer Petroleumlampe sterilisiert wird. Die dort herrschende Hitze reicht aus; sie wird auch zur Fixierung des Ausstriches benützt, indem man das Deckglas 4—6mal mit der Pinzette über dem Lampencylinder wegführt. Zu Hause kann dann gefärbt werden. Farbstoffe lassen sich in kleinen, abgeteilten Mengen in der Art vorrätig halten, dass man Filtrierpapierstreifen von etwa 10 cm Länge und ½—1 cm Breite in eine konzentrierte alkoholische Farblösung taucht und trocknen lässt. Zum Gebrauch übergiesse man einen solchen Streifen mit etwas Wasser und das Färbemittel für etwa ein Dutzend Deckgläschen ist sofort fertig. Zur Gewinnung von Ziehl-scher Lösung weicht man Fuchsinpapier anstatt in Wasser in 2—5%iger Karbollösung auf (v. Esmarch, H. 2. 653).

Die Herstellung doppelt (oder mehrfach) gefärbter Ausstrichpräparate kommt nur für besondere Fälle in Betracht, in erster Linie bei dem Nachweis von Tuberkelbazillen, sodann zur Differenzierung von Bakterien durch die Gramsche Methode. Sie vollzieht sich ähnlich wie bei Schnitten (S. 48).

Die Herstellung und Färbung von Schnittpräparaten.

Der Färbung geht die Zerlegung von Organstückchen in durchsichtige, für die mikroskopische Untersuchung geeignete Scheiben, dieser wieder eine zweckmässige Fixierung und Härtung voran.

Für bakteriologische Untersuchungen reichen wir mit der Alkoholhärtung aus, hinsichtlich der seltenen Fälle, wo zur Darstellung histologischer Einzelheiten oder aus andern Gründen abweichende Verfahren gewünscht werden, verweise ich auf die §. 44 angegebenen Werke.

Zur **Härtung** werden die möglichst frischen Leichenteile in Stücke, die die Grösse von Mäuseorganen nicht überschreiten sollen, vorsichtig, ohne die Gewebe zu drücken oder zu zerren, mit einem scharfen Messer zerschnitten, dann in ein mit gut schliessendem Stopfen versehenes Glas auf die am Boden befindliche, von Fliesspapier bedeckte Watteschicht gelegt und mit 60—70%igem Spiritus übergossen; am andern Tage wird dieser durch einen höher prozentigen, schliesslich durch absoluten Alkohol ersetzt, auch zuvor die Watte gewechselt. Häute, seröse Häute, Membranen, aufgeschnittene Darmstücke u. ä. D. werden mit Stecknadeln auf Korkstücken oder Holzteilchen befestigt oder über Glasleistchen, Objektträger u. dgl. gezogen, in den Spiritus eingestellt.

Der Alkohol ist bekanntermassen recht hygroskopisch, so dass ein als absoluter Alkohol bezogenes Präparat, wenn das Glas nicht sehr gut verschlossen, oder wenn es schon mehrmals geöffnet war, bald mehr oder weniger wasserhaltig sein wird. Ueberhaupt erhalten wir vom Droguisten u. s. w. selten einen mehr als 96—99 %igen, der für unsere Zwecke ausreicht. Soll er nun vor dem Schwächerwerden bewahrt werden, so werfen wir Stücke von geglühtem (weissem) Kupfervitriol*) ins Glas. Es verlohnt sich auch, von Zeit zu Zeit mit Hilfe des Aräometers oder der Mohr-Westphalschen Wage den Prozentgehalt des vom Händler bezogenen Alkohols festzustellen. Es kam mir z. B. vor, dass bei der Uebertragung der Schnittpräparate vom Alkohol ins Xylol eine milchige Trübung entstand, so dass es den Anschein hatte, als läge ein Fehler in der Entwässerung zu Grunde, bis sich zeigte, dass der Alkohol an und für sich zu wasserhaltig war. Mit einem derartigen Präparat kann man auch keine ordentliche Härtung der Organe erzielen.

Sind die Stückchen vom Wasser befreit und gehärtet, so werden sie, falls nicht einige von ihnen sofort „geschnitten“ werden, auf ein Stückchen Musselin gelegt, dieses zum Säckchen gefaltet, zugebunden und ein Stück Visitenkarte mit der nötigen Bezeichnung (Herkunft; Datum, Jahr!) angehängt. Eine grössere Anzahl solcher Beutelchen kann zusammen in einem wohlverschlossenen Präparatencylinder, dessen Inhaltsverzeichnis aussen steht, unter Alkohol aufbewahrt werden (Fig. 37 rechts).

Die **Zerlegung in mikroskopische Schnitte** in freier Hand mit

*) Chlorkalcium eignet sich zum Entwässern hier nicht, weil ein derartig behandelter Alkohol infolge Chlorgehaltes die Färbung der Präparate zerstören würde.

einem Rasiermesser ist nicht leicht, doch sollte sie jeder geübt haben. Jetzt stellen wir uns die Schnitte fabrikmässig mit dem Mikrotom her, dessen Behandlung Sorgfalt, Genauigkeit und Sauberkeit erfordert.

Wer ein **Mikrotom** vor sich sieht, wird die Einrichtung und die Art der Verwendung der einzelnen Teile im allgemeinen auch ohne weitere Anleitung verstehen. Darum hier nur einige Winke für die Behandlung, namentlich auch für die Auswahl:

Verschiedene Fabriken liefern vorzügliche Instrumente, die sich in Einrichtung, Ausstattung und Preislage wesentlich voneinander unterscheiden. Wir ziehen ein einfaches einem sehr zusammengesetzten vor. Auf Grund meiner Erfahrungen empfehle ich das Mikrotom Nr. 3 von M. Schanze*) mit Gefrierapparat (Länge der Schnittbahn 17 cm) und dessen Vereinigung mit Jungschem Messerhalter (Klemme) und Messern**); denn die Schanzesche endständige Befestigung des Messers lässt ein Federn und Ausweichen des Stahls an harten Präparaten zu, was bei der Jungschen Klemme, die das Messer (ohne Griff) in der Mitte fasst, nicht möglich ist.

Die Messer sollen von verschiedener Form sein, je nachdem sie für Celloidin-, Paraffin- oder für Eispräparate verwendet werden. Wer sich nicht alle drei Sorten anschaffen will, wähle die letztere und diese lieber doppelt, weil wir kaum mehr ein anderes als das Gefrierverfahren anzuwenden brauchen. Die Zusammenstellung würde folgendermassen sein:

1 Schanzesches Mikrotom Nr. 3 mit Gefriervorrichtung und Mahagonikasten	M.	93,00
1 Jungsches Messer für Eispräparate von 12 cm Schnittlänge	„	8,00
1 Etui dazu	„	2,50
1 Jungscher Messerhalter (Klemme)	„	7,00
1 Griff von Ebenholz zum Einspannen der Mikrotommesser	„	3,00
1 Abziehvorrichtung (Röhrenform) für Messer	„	2,50
1 Streichriemen, vierseitig, von C. Zimmer-Berlin . . .	„	4,50
Summe	M.	120,50

Wer nicht soviel aufwenden kann, findet in einem billigen und, wie mir von Fachgenossen versichert wurde, brauchbaren kleinen Mikrotom von Jung Ersatz. Es ist unter Nr. 7 im Preisverzeichnis von R. Jung***) mit 27 Mark ausgezeichnet.

Vor dem Schneiden wird die Schlittenbahn des Mikrotoms von etwaigem Staub gereinigt und mit wenig Klauenfett oder Olivenöl bestrichen, das nachher sorgfältig wieder abgewischt werden muss.

Besonderes Augenmerk ist auf stetige Durchgängigkeit der beiden Oeffnungen des Aethersprühers zu richten. Vor jedesmaligem Gebrauch schraube man das Endstück heraus und prüfe, ob der Aethernebel auch in dickem Kegel austritt, denn manchmal verlegen feine Schmutzteilchen, Oxydationsprodukte u. dgl. die feinen Löcher; noch besser ist es, nach der Trocknung, die immer nach Gebrauch sorglich zu geschehen

*) Leipzig, Brüderstrasse 63.

**) Bei W. Walb, Heidelberg, Hauptstr. 7; König, Berlin, Dorotheenstr. 29, liefert diese Zusammenstellung auf Wunsch.

***) Heidelberg, Landhausstrasse 12.

hat, einen Silberdraht, wie in Spritzenkanülen, einzustecken. Die Gummiteile müssen stets in gutem Zustande sein, namentlich dürfen die feinen Verbindungsschläuche des Aethergefässes mit dem Sprüher nicht geknickt aufbewahrt werden. Das Instrument muss immer wie neu aussehen!

Nächstdem erfordert das Messer alle Sorgfalt. Vor und nach jeder Benützung ist es auf dem Streichriemen abzuziehen, ohne die Schneide dagegen zu drücken. Der Streichriemen darf nur mit seiner eigenen Papphülse und mit dem Messer, höchstens noch einem feinen Tuch zum Abwischen, sonst mit keinem andern Gegenstand in Berührung kommen, nie auf den Tisch gelegt werden. Ein einziges anhängendes Körnchen kann die Schneide des Messers, die mikroskopisch tadellos gerade und ununterbrochen verlaufen soll, verderben und wer weiss, ob ein Nachschleifen je wieder eine vorher ideal gewesene Schneide herausbringt. Walb gibt in seinem Preisverzeichnis eine gute Anleitung für die Behandlung des Messers, auch für Selbstbesorgung des Schleifens auf dem Stein. Ich möchte aber raten, das Schleifen dem Fabrikanten zu überlassen und lieber das Messer für einige Zeit zu entbehren; deshalb riet ich auch zum Reservemesser.

Für das Schneiden gibt es keine bessere Vorbereitung wie das **Gefrierverfahren mit Anethol** (Kühne, C. 12. 28). Es eignet sich, wenn nicht für alle, so doch für die meisten Zwecke, und zeichnet sich, wie kein anderes, durch Einfachheit und Sauberkeit in der Handhabung aus. Mit Umgehung aller umständlichen Einbettungs- und Aufklebemittel zerlegen wir den im Alkohol gründlich gehärteten Organteil in geeignet geformte, kleine Stückchen von nicht mehr als 2—5 mm Dicke, befreien ein solches durch Abtupfen mit Filtrierpapier vom Spiritus und bringen es für 12—24 Stunden in ein kleines, mit Stopfen versehenes Fläschchen, worin sich reines Anisöl befindet.

Das ätherische Oel muss von sehr guter Beschaffenheit, darf namentlich nicht zu alt sein. Wir beziehen es auf Kühnes Empfehlung von Schimmel & Co., Leipzig (100—200 g reichen für längere Zeit), als Ol. anisi pur., dessen Erstarrungspunkt etwas unter 26° liegt. In der kühleren Jahreszeit muss es deshalb vor Gebrauch im warmen Wasserbade aufgetaut werden. Das Gläschen mit dem Schnittmaterial setzen wir erst in ein grösseres Präparatenglas, um die Umgebung von den Dämpfen des Oeles zu schützen, die z. B. auf Bakterienkulturen nachteilig wirken könnte, und übergeben es über Nacht dem Brutschrank, damit das Oel flüssig bleibt und gehörig in die Gewebe einzudringen vermag.

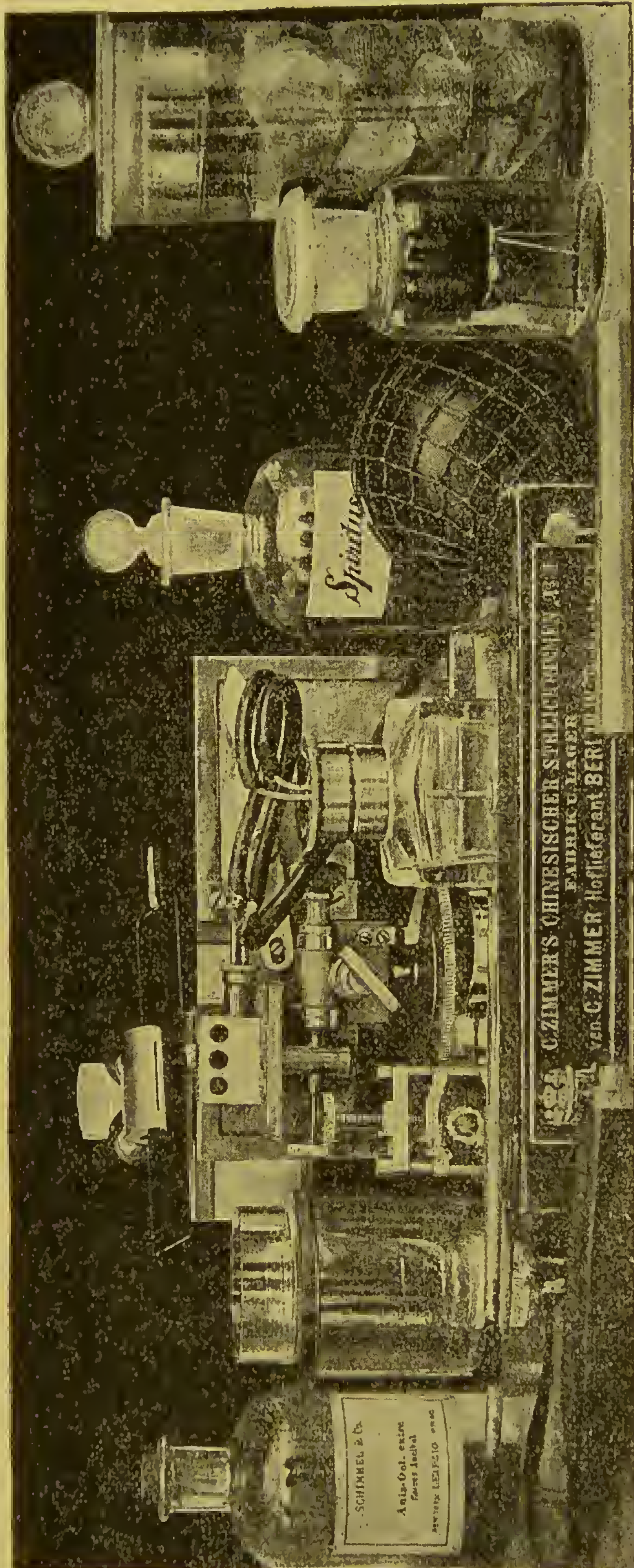
Andern Tags setzen wir das Mikrotom mit dem Gefrierapparat in stand, reinigen die Objektplatte mit Alkohol, der wieder gehörig abgetrocknet werden muss, und erwärmen sie vorsichtshalber durch Auflegen eines erhitzten russfreien Objektträgers, damit das Anethol nicht gleich bei der Berührung erstarrt. Eine Pinzette überträgt hierauf das Objekt, dem noch einige Oeltropfen anhaften, entweder direkt auf die Objektplatte oder bei dünnen Präparaten zunächst auf 2—4 kleine Blättchen Filtrierpapier*), die mit Anethol durchtränkt werden; ein paar

---

*) Singer, Beitrag zur Lehre von der Streptokokken-Infektion. Dissertation. Würzburg 1893.

Hübe des Aethergebläses genügen, um Oel und Präparat in eine Eismasse zu verwandeln.

Fig. 37.



Ein Schanzesches Mikrotom mit Gefriervorrichtung und Jungschem Messer nebst Klemme.

Griff und Abziehvorrichtung dazu liegen vor dem Streichriemen. Hinter ihm steht noch eine Klemme mit auf Kork geklebtem Präparate. Links davon eine Schale zur Aufnahme der Schnitte. Sie ruht auf einem Präparatenglas, worin sich ein kleineres Gläschen befindet, in dem die Gewebsstücke mit Anisöl durchtränkt werden (Geruchlose Aufbewahrung). Die vorletzte Flasche rechts enthält Spiritus; durch Nadeln beschwert wird in ihm ein Kork mit aufgeklebtem Gewebsstück untergetaucht gehalten. Der letzte Präparatencylinder enthält verschiedenartige Gewebsstücke, einzeln in Musselinbeutelchen (mit Anhängzetteln) verpackt, in Spiritus gehärtet.

Ist das Messer in die richtige Höhe und möglichst im spitzen Winkel zum Präparat (um die Schneide auszunützen) gestellt worden, so schneidet der erste Zug soviel ab, dass eine glatte Schnittfläche ent-

steht, und nun wird zwischen jedem weitern Zug die Drehscheibe der Hebevorrichtung um soviel Teilstriche vorwärts bewegt, als hundertstel Millimeter Schnittdicke erzielt werden sollen, im allgemeinen nicht über 2—3, denn je dünner der Schnitt desto besser.

Die meist aufgerollten Schnitte lassen wir in ein untergestelltes leeres Schälchen fallen oder befördern sie mit einer Nadel oder einem trockenen Pinsel hinab; dazwischen wischt die linke Hand etwa anhaftende Gewebsteile von der untern und obern Seite des Messers ab, um alle Unebenheiten zu beseitigen. Hie und da macht man noch einige Aethersprühstösse, damit sich der angefrorene Gewebsblock nicht ablöst. Sollte das geschehen sein, so schieben wir ihn samt den Resten des erstarrten Anethols auf einen Objektträger, erwärmen einen andern über der Flamme und legen ihn unter den ersten und auf die Objektplatte, die zuvor mit Alkohol gewaschen und wieder getrocknet wird. Dann schieben wir das Material wieder auf die Objektplatte, sobald das Oel durch die Erwärmung ganz flüssig geworden ist. Nach dem Anfrierenlassen muss eine neue Schnittfläche hergestellt werden.

Sind wir fertig, dann übergiessen wir die Schnitte im Schälchen mit warmem Anisöl und lassen sie darin auftauen. Unterdessen ziehen wir das Messer auf dem Streichriemen ab und legen es ins Etui; den Gefrierapparat befreien wir durch Alkoholwaschung von den anhängenden Oelresten, die Schlittenführung mit einem trockenen Tuche vom Fett und stellen das gereinigte Mikrotom wieder in seinen Kasten.

Nun werden die Schnitte auf einen breiten Spatel gebracht und, nachdem das Oel mit Filtrierpapier möglichst abgetupft ist, in Alkohol übertragen. Nach einiger Zeit giessen wir den Alkohol vorsichtig von ihnen ab und ersetzen ihn 1—2mal durch frischen, bis zur völligen Entfernung des Anethols. Dann folgt die Färbung der Schnitte in der später zu schildernden Weise; die Anetholbehandlung scheint ihr eher förderlich als nachteilig zu sein.

Der Vollständigkeit halber seien noch einige der früheren Methoden aufgeführt.

Das **Frierenlassen in Wasser** kommt für gehärtete Präparate kaum mehr in Frage; in diesem Falle müssen die Gewebsstückchen so lange in destilliertes Wasser von 30—40° gelegt werden, bis sie untergesunken und von Alkohol ganz befreit sind; erst dann können sie gefrieren. Dabei muss man mehrmals gefrieren und wieder auftauen lassen, damit auch die mittleren Partien durchfrieren. Am ehesten kann das Verfahren bei frischen Leichenteilen*) angezeigt sein.

Das **Aufkleben** der in Alkohol gehärteten Gewebsteilchen auf Korkstücke, die in die Klammer des Mikrotoms gespannt werden, mit Mucilago Gummi arabici (1 Gummi : 2 Wasser) oder mit Glyzeringelatine (1 Tl. Gelatine, 2 Tl. Wasser, 4 Tl. Glyzerin) nach Weigert. Das flüssig gemachte Klebematerial wird auf den Kork gebracht, das Gewebestückchen leicht eingedrückt, abgewartet, bis Erstarrung an der Luft eingetreten, und dann für mehrere Stunden in Alkohol gelegt,

*) Frische Leichenteile schneiden wir nur unter besondern Bedingungen, um das Messer nicht unnötig mit Infektionsstoffen in Berührung zu bringen.

wobei durch eingesteckte Nadeln oder kleine Nägel die Präparatseite nach unten gezogen wird. Beim Schneiden muss das Messer und das Präparat fortwährend mit Alkohol feucht gehalten werden. Das Verfahren ist neben der Anetholmethode das einfachste, wenn es sich um dichtes Gewebe handelt, während Lungenstückchen oder Gewebe mit vielen Poren, Lücken oder Hohlräumen ohne Durchtränkung nicht gut geschnitten werden können. (Die Durchtränkung geschieht eben vorteilhaft mit Anethol, nur bei grösseren Stücken empfiehlt es sich, noch auf eine der früheren Einbettungsmethoden zurückzugreifen.)

Die **Einbettung in Celloidin** (Schiefferdecker und Blochmann). Das Präparat wird in Tafeln (à 3 M.) aus Scherings grüner Apotheke (Berlin N) bezogen; sie sind, auch wenn steinhart geworden, noch zu gebrauchen. Abschnitte davon werden zwischen mehreren Lagen Papiers mit dem Hammer in Stücke zerklopft und in einer Mischung gleicher Teile Aether und Spiritus zu Kollodium aufgelöst. Man setzt eine dünnflüssige und eine stärkere Lösung von Sirupdichte an. Die in Alkohol gut gehärteten Organstückchen müssen erst 1—2 Tage in der genannten Aether-Spirituslösung liegen und werden dann ebensolange in das dünnere und das dickere Kollodium übertragen. Der Kork, worauf die Stücke zu liegen kommen, wird aufgerauht und mit einer Schichte Celloidinlösung bedeckt, das Schnittmaterial aufgelegt, und mit Nadeln beschwert in 85 %igen Alkohol (Busse)*), nicht in absoluten versenkt. Die notwendige Befeuchtung von Messer und Präparat beim Schneiden darf ebenfalls nur mit 85 % Alkohol geschehen, denn der absolute löst Celloidin. Schnitte, deren Zusammenhang ein genügender ist, werden mit absolutem Alkohol später vom Celloidin befreit. Ist das aber nicht angängig, so muss das anhaftende Celloidin die Färbung mitmachen und stört schliesslich das Bild. Namentlich die Tuberkellbazillenfärbung scheint durch Celloidin beeinträchtigt zu werden.

Die **Einbettung in Paraffin** ist umständlich und zeitraubend. Bei bakteriologischen Untersuchungen, wo meist nur kleine Gewebsstückchen geschnitten werden, hat man deshalb nicht viel von ihr Gebrauch gemacht. Mit folgendem von N. Walker (Monatshefte f. pr. Derm. 16. 113) beschriebenem Verfahren sollen sich jedoch die vollkommensten Schnitte erzielen lassen.

Nachdem die Gewebe in mehrfach gewechseltem Alkohol vollständig entwässert sind, werden sie für 24 Stunden in Terpentinöl, oder in Chloroform oder Benzol, am besten in Toluol gelegt und, nachdem sie bis zum Schmelzpunkt des betreffenden Paraffins erwärmt sind, in dieses übertragen. Im Winter nimmt W. solches von 48°, im Sommer von 51° Schmelzpunkt. Da die Schnitte je nach Grösse 6 bis 24 Stunden im Paraffinbade bleiben müssen, benötigt man eines auf jene Wärmegrade eingestellten Wärmeschrankes.

Dann nimmt man eine Form aus Papier oder aus Glas nach Art der Fig. 38, erwärmt sie und füllt das Paraffin ein, worauf die Gewebs-

---

*) Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie 9. 49.

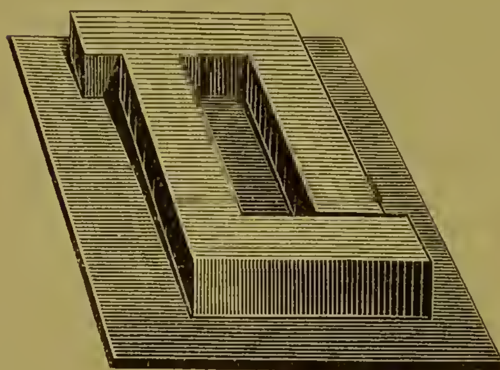
stücke mit einer erwärmten Pinzette gefasst, ebenfalls hineingegeben werden.

Sind die Ränder des Paraffinklotzes genau parallel, so schiebt beim Schneiden jeder neue Schnitt den vorangehenden vor sich her. Nachdem die möglichst dünn angelegten Schnitte in einer Reihe auf einem Papierstreifen ausgebreitet sind, werden sie nach Gullard folgendermassen auf dem Objektträger befestigt:

Man nimmt eine Schüssel mit warmem Wasser, dessen Temperatur nur ganz wenig unter dem Schmelzpunkte des Paraffins liegt, und lässt die Präparate darauf fallen.

Nach sehr kurzer Zeit sind sie vollständig glatt geworden; man schiebt einen Objektträger unter und hebt sie damit aus dem Wasser heraus. Die Objektträger werden in Serien geordnet, über Nacht in den Brutofen bei 30 ° gelegt.

Fig. 38.



Das hier vor sich gehende Austrocknen ist ein höchst notwendiges Bedingnis; wenn es nicht vollständig geschieht, lösen sich die Schnitte beim Waschen vom Glase wieder ab.

Das Paraffin wird dann mit Benzol aufgelöst, letzteres mit Alkohol und dieser seinerseits mit Wasser abgewaschen. Man wird finden, dass die Schnitte so fest am Glase haften, dass sie ohne Schaden unter den Strahl der Wasserleitung gehalten werden können.

Dann wird gefärbt.

Wenn man die Befestigung auf Deckgläsern, statt auf Objektträgern vornimmt, sollen sie sich noch besser behandeln lassen.

Hinsichtlich anderer Verfahren bei und nach der Paraffineinbettung, sowie der Methoden der Entkalkung oder besondrer Arten der Fixierung oder Behandlung von Schnitten, z. B. zur Darstellung der Kernteilungsfiguren verweise ich auf einschlägige Werke wie:

Behrens, Kossel und Schiefferdecker, Das Mikroskop (Braunschweig bei H. Bruhn).

Neelsen, Grundriss der pathologisch-anatomischen Technik (Stuttgart bei F. Enke).

C. v. Kahlden, Technik der histologischen Untersuchung pathologisch-anatomischer Präparate, Ergänzungsheft zu Zieglers Lehrbuch der pathologischen Anatomie (Jena bei Fischer).

Huber und Becker, Ergänzung zum gleichnamigen Lehrbuch von Birch-Hirschfeld (Leipzig bei C. W. Vogel).

Auch ein Werk über normale Histologie gehört ins Laboratorium.

Die Färbung der Schnittpräparate.

Haben sich die Schnitte im Alkohol noch nicht gehörig ausgebreitet, so erfolgt das bei der nachherigen Uebertragung in Wasser oder wässerige Lösungen durch die entstehenden Diffusionsströme; sehr zarte Gewebe reissen dabei allerdings leicht ein.

Die Uebertragung geschieht mit einem Spatel, der durch die

Kühnesche Pinzette in Verbindung mit dem Deckglas recht gut ersetzt werden kann.

Die Farbstofflösung pflegt man in ein Uhrschälchen oder in das standsicherere Blockschälchen zu schütten und den Schnitt zur **Färbung** hineinzulegen. Kühne lässt zu seiner leichteren Wiederauffindung eine Beleuchtung mit Spiegel von unten eintreten.

Steinbach gebraucht bei der Färbung und allen ihr folgenden Handgriffen eine zur Aufnahme der Schnitte dienende Glasdose mit siebförmig durchlöchertem Boden, die der Reihe nach in etwas grössere, die nötigen Lösungen u. dgl. enthaltende Glasschalen getaucht wird. Sie soll den Arbeiter des mühsamen Fischens nach einzelnen Schnitten überheben und gestatten, viele gleichzeitig zu behandeln. Das scheint mir aber kein Vorteil, denn im allgemeinen bleibt der Grundsatz zu Recht bestehen, nur Einen Schnitt auf einmal zu färben, daran den Ausfall des Verfahrens zu prüfen, um bei den folgenden Schnitten etwa geeignete Aenderungen eintreten lassen zu können.

Ich ziehe es vor, den Schnitt im Alkohol und dann im Wasser mit dem Deckglas aufzufangen und mit Hilfe einer Nadel auf diesem oder auf einem Objektträger glatt auszubreiten, die überschüssige Flüssigkeit mit Fliesspapier vorsichtig abzusaugen, dann den Farbstoff aufzuträufeln, wie wenn man ein Ausstrichpräparat vor sich hätte. Soll die Farblösung stundenlang einwirken, dann benütze ich entweder ein Blockschälchen oder ich lege das Präparat auf einer Unterlage in eine feuchte Kammer, d. i. eine Doppelschale von Glas, auf deren Boden angefeuchtetes Filtrierpapier ausgebreitet ist.

Zur Entfernung des überschüssigen Farbstoffes gebe ich dann das Deckgläschen (oder den Objektträger) nacheinander in zwei grössere Porzellanschalen mit je 100—200 ccm Wasser. Hier lässt sich der wirbelnde Schnitt leicht verfolgen, in Bewegung halten und nach Abspülung des überschüssig anhaftenden Farbstoffs wieder auf das in der Kühneschen Pinzette gehaltene Deckgläschen schieben.

Mit der Wasserspülung ist der 2. Akt, die **Entfärbung**, eingeleitet. Wir wünschten, dass sie nur das Gewebe, nicht die Bakterien betreffe, und erreichen dies teilweise auch ohne unser Zuthun durch die Eigenschaft der Bakterien (und der Zellkerne), die Anilinfarben im allgemeinen intensiv aufzunehmen und sie schwerer wieder fahren zu lassen, als das Protoplasma der Gewebszellen. Die Bakterien aber sind sich darin nicht alle gleich. Die einen halten den leichter oder schwerer aufgenommenen Farbstoff länger und intensiver fest, andere wieder entfärben sich so ziemlich in demselben Masse, wie das Gewebe, so dass die äusserste Vorsicht in der Zeitdauer der Entfärbung geboten und es oft nur von einem günstigen Zufall abhängig ist, wenn man die Kleinwesen noch gut gefärbt, von der Umgebung sich abhebend bekommt.

Nächst dem Wasser greifen wir zum verdünnten Alkohol. So wenig eine rein alkoholische Farbstofflösung bakterien- und kernfärbende Eigenschaft besitzt, ebensowenig kann der absolute Alkohol eine entfärbende Wirkung ausüben, wie Günther*) zuerst darlegte. Die Farbe geht nicht auf einmal, sondern allmählich aus dem Präparat.

---

*) C. Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. Leipzig bei G. Thieme 1891. S. 78 ff.

Es empfiehlt sich, statt einer grösseren mehrere kleine Portionen verdünnten Alkohols zu benützen oder abwechselnd Alkohol und Wasser.

Die Wirkung lässt sich steigern, wenn vor der Uebertragung in den verdünnten Alkohol in Salzlösungen (z. B. von kohlensaurem Kalium, kohlensaurem Lithium) gespült wird, noch mehr aber durch Behandlung mit Säuren, von denen je nach den gegebenen Verhältnissen und der Art der Bakterien ganz schwache ¼—½ %ige bis zu 20 und 25 %igen Lösungen zur Anwendung gelangen. In jedem Falle ist für nachherige völlige Entfernung jeder Spur von Säure zu sorgen, sonst wird die Haltbarkeit der Färbung nur eine eng begrenzte sein.

Eine schonende Entfärbung lässt sich durch Anilinöl erreichen, das überall da passt, wo man vom Alkohol eine zu weit gehende befürchtet. Ausserdem gibt es noch eine Reihe von Mitteln zur behutsamen Entfernung des überschüssigen Farbstoffes aus den Geweben unter Schonung der Bakterienfärbung. Im speziellen Teile, bei der bakteriologischen Diagnostik, werden wir solchen mehrfach begegnen.

Als 3. Akt folgt die **Entwässerung.** Sie kann durch Fliesspapier, Gebläse und Wärme bewirkt werden (Kühne)*), namentlich in Fällen, wo überhaupt kein Alkohol mit den Präparaten in Berührung kommen soll. Alles Wasser wird vorsichtig, ohne den Schnitt zu berühren, mit Fliesspapier abgesaugt, das mit Bleiklötzchen beschwerte Deckglas direkt unter der senkrecht nach abwärts gerichteten Ausführungsröhre des Gebläses (Fig. 2) behandelt, bis der Luftstrom keine dunklere Schattierung auf dem Präparat mehr erzeugt und das Gläschen, nach Aufsaugung etwa noch neben dem Schnitt liegender Wassertröpfchen mit Filtrierpapier, auf eine von unten erwärmte Platte gelegt, deren Temperatur nicht viel über 37° steigen soll. Sieht man den Schnitt durchsichtig glasig werden, so bleibt er von diesem Augenblick an noch etwa 5 Minuten auf der Platte, dann lässt man das Deckgläschen in ein Schälchen mit ätherischem Oel gleiten und bringt es schliesslich in Xylol und, wenn alles gelungen, in Kanadabalsam.

Es ist das eine Abänderung des Unnaschen Trockenverfahrens, bei dem der Schnitt durch Aufdrücken mehrfacher Lagen Fliesspapier vom meisten Wasser befreit, 1—2 Minuten über der Flamme „gebraten" wird, eine Methode, die zwar „zum einfachen Nachweis von Bakterien im Gewebe vorzüglich geeignet ist und sich grosser Verbreitung zu erfreuen hat, zu feineren histologischen Studien aber nicht brauchbar ist" (Hueppe).

Weigert bediente sich des Anilinöls, das etwa 5 % Wasser aufzunehmen vermag, zur Differenzierung und Entwässerung statt des Alkohols (F. 5. 228).

In allen Fällen, wo eine schädliche Einwirkung nicht zu befürchten, nehmen wir absoluten Alkohol in mehreren kleineren Mengen, da bei den ersten Uebertragungen immer noch etwas Wasser mitkommt.

---

*) H. Kühne, Praktische Anleitung zum mikroskopischen Nachweis der Bakterien im tierischen Gewebe. Leipzig bei E. Günther 1888. S. 24.

Zur **Aufhellung** wandern dann die Schnitte in Xylol, wo sie beliebig lange verweilen dürfen; entsteht dabei eine milchige Trübung, die das Präparat verderben kann, so war die Entwässerung ungenügend, oder der Alkohol nicht absolut. Kühne u. a. lassen sie erst durch ätherisches Oel (Thymen, Thereben, Terpentinöl u. dgl.) gehen; doch ist eine schädliche Wirkung auf die Färbung dabei nicht ausgeschlossen; namentlich kommt eine solche dem früher viel gebrauchten, jetzt mehr und mehr verlassenen Nelkenöl zu.

Wurden bei der nun folgenden mikroskopischen Untersuchung erst bei schwacher Vergrösserung, dann mit Tauchlinsen die Präparate als geeignet zur Aufbewahrung befunden, so wird das Xylol durch ein Tröpfchen in Xylol gelösten Kanadabalsams ersetzt: **Einschluss.**

Wir schwemmen zu diesem Zwecke das Deckglas mit Xylol ab, sorgen allenfalls nochmals für gute Ausbreitung des Schnittes und bedecken ihn mit so wenig Balsam, dass er für die Fläche des Deckgläschens gerade ausreicht. Letzteres wird nicht platt aufgelegt, sondern auf eine Kante gestellt, an der gegenüberliegenden mit einer Nadel unterstützt und langsam gegen den Objektträger gesenkt, damit etwaige Luftblasen Gelegenheit haben, auszutreten.

Das ist im grossen und ganzen der Gang bei der färberischen Behandlung von Schnitten, der selbstredend verschiedene Ausnahmen und Abänderungen erleiden kann, namentlich bei Anwendung besondrer Differenzierungsverfahren, oder bei Doppelfärbungen, wie bei der Gramschen Methode oder bei der Darstellung der Tuberkelbazillen.

Aufführung einzelner wichtigerer Färbungsverfahren.

1. Die einfachste Behandlung:
   Alkalische Methylenblaulösung 2—5 Minuten.
   oder verdünnte Karbolfuchsinlösung je nach der Verdünnung 1—10 Minuten.
   Wasser
   Alkohol, erst verdünnt, dann absolut.
   Xylol.

oder mit schwacher Säure zur Entfärbung (Weigert):
   Färbung wie vorhin.
   ½ %ige Essigsäurelösung 3—15 Sekunden.
   Wasser u. s. w.

2. Verfahren nach Kühne (F. 6. 860):
   Karbolmethylenblau (S. 35) 3—4 Minuten.
   0,5 %ige Salzsäurelösung flüchtig.
   Wasserspülung gründlich.
   Fliesspapier in mehrfacher Lage zusammengelegt zur Trocknung aufgedrückt.
   Anilinöl 4 Tl. + Terpentinöl 1 Tl. 8—10 Minuten.
   Terpentinöl.
   Xylol.

(Die Einzelheiten des Gewebes erscheinen danach wenig ausgesprochen.)

3. Verfahren nach Gram:

Es gestattet eine Unterscheidung der Bakterien in zwei Gruppen, solche, die bei seiner Anwendung gefärbt bleiben, und andere, die sich, wie die Zellkerne, dabei entfärben; es ist also ein Entfärbungsverfahren.

Gefärbt wird mit Anilinölwassergentianaviolett. Keine andern als die violetten Anilinfarben eignen sich zu der Methode, deren Eigentümlichkeit in der Benützung einer Jodjodkaliumlösung besteht. Durch sie wird eine Jodpararosanilinverbindung erzeugt, die stärker an gewisse Bakterien, wie an die Struktur des Gewebes gebunden ist (Unna). Die Beständigkeit jener Verbindung in Bakterienzellen ermöglicht eine Gegenfärbung. Dazu wählt man eine andere Farbe von geringer Verwandtschaft zum Zellinhalt der Bakterien, die gleichzeitig imstande ist, die dunkelblau oder dunkelviolett gefärbten Kleinwesen recht deutlich von ihrer Umgebung abzuheben, etwa braun oder rot. Die braune Färbung mit Bismarckbraun oder Vesuvin wird seltener und mit weniger Vorteil angewendet, als die rote in Gestalt von Karmin oder einer sauren Anilinfarbe, des Eosins.

Wir folgen gerne dem C. Fränkelschen Vorgange*), die Gegenfarbe zuerst einwirken zu lassen. Als solche dient:

Die Friedländersche Karminlösung: Karmin 1, Ammoniak 1, destilliertes Wasser 50 werden vermischt, dazu soviel konzentrierte wässerige Pikrinsäurelösung gesetzt, bis der entstehende Niederschlag (Karmin) beim Umrühren nicht mehr gelöst wird. Zugabe einer Spur Ammoniak löst den Niederschlag wieder auf (Günther):

oder die Weigertsche Lösung:

1. Karmin	2 g
2. Ammoniak	4 g
3. Pikrinsäurelösung konzentriert	200 g
4. Essigsäure	Spur
5. Ammoniak.	

1 und 2 sind 24 Stunden stehen zu lassen, dann 3 hinzuzufügen; 4 (bis ein stärkerer Niederschlag zu bemerken ist) nach weiteren 24 Stunden. Später wird in Zwischenpausen tropfenweise 5 hinzugefügt, bis die Lösung klar ist. Färbt die Lösung zu rot, wird wenig Ammoniak zugesetzt, färbt sie zu gelb, etwas Essigsäure (nach Behrens);

oder Eosinlösung:

Konzentrierte alkoholische Eosinlösung	1 Tl.
Destilliertes Wasser	4 Tl.

Die zur Bakterienfärbung nötige Anilinwassergentianaviolettlösung wird in der S. 34 angegebenen Weise bereitet.

Die Gramsche Vorschrift für die Jodjodkaliumlösung lautet:

Jod	1,0
Jodkalium	2,0
Destilliertes Wasser	300,0

Wir bedürfen zweier Flaschen und einer Reibschale mit Pistill. In der ersten Flasche wird die Jodkaliumlösung (2 : 300) gemischt,

*) C. Fränkel, Grundriss der Bakterienkunde. Berlin bei A. Hirschwald.

hierauf geben wir 1 g Jod in die Reibschale, verreiben es mit kleinen Portionen jener Lösung und giessen jedesmal in die zweite Flasche ab.

Ausführung und Abänderungen:

In seiner ursprünglichen Fassung (F. 2. 185) wird das Gramsche Verfahren jetzt kaum mehr geübt. Ihm zufolge bleiben die Schnitte 1—3 Minuten in der Farblösung (Tuberkelbazillenpräparate 12—24 Stunden), kommen dann für 1—3 Minuten in die Jodjodkaliumlösung, dann in mehrmals erneuerten absoluten Alkohol und in Nelkenöl. Trotz Filtration der Lösungen zeigen die also behandelten Präparate oft fein- und grobkörnige Niederschläge, die dem Unbewanderten, der die Grössenunterschiede nicht berücksichtigt, wohl auch den Eindruck von Kokken machen können. Günther hat eine Abhilfe angegeben, mit der die Vermeidung dieser lästigen Erscheinung in vielen Fällen gelingt. Das als Gram-Günthersches bekannte Verfahren gestaltet sich folgendermassen (Günther, Einführung etc. S. 89 f.):

Der Schnitt gelangt aus Alkohol:

1. in Wasser auf mehrere Minuten; darauf
2. in Friedländers Pikrokarminlösung 1—2 Minuten.
3. Auswaschen in 4—5mal erneuertem Wasser.
4. Alkohol.
5. Färbung in Anilinwassergentianaviolettlösung 1—2 Minuten (Lepramaterial ½ Stunde, Tuberkuloseschnitte 12—24 Stunden); die Lösung soll mindestens 24 Stunden alt sein.
6. Herausnehmen des Schnittes, Abtupfen des überschüssigen Farbstoffes auf Fliesspapier und Einbringen in Jodjodkaliumlösung auf 2 Minuten. (Der Schnitt liegt dabei gut ausgebreitet auf dem Grunde des Schälchens.)
7. In Alkohol auf ½ Minute.
8. In 3%igen Salzsäurealkohol auf genau 10 Sekunden.
9. Sofortige Uebertragung in ein bereit gehaltenes Schälchen mit reinem Alkohol auf mehrere Minuten.
10. Noch ein- oder mehrmalige Uebertragung in frischen Alkohol bis zu maximaler Entfärbung (es darf sich keine Farbstoffwolke mehr von dem Schnitte abheben).
11. In Xylol.
12. Auf den Objektträger.

Eine andre Abänderung rührt von Weigert her; sie vermeidet jegliche Einwirkung von Alkohol; zur Entwässerung dient Anilinöl:

Der mit einer Karminlösung vorgefärbte Schnitt wird, auf dem Objektträger oder Deckglas bleibend, folgendermassen weiterbehandelt:

Anilinwassergentianaviolett (konzentrierte Lösung).

Ueberschuss des Farbstoffes ablaufen lassen, Rest mit Filtrierpapier entfernen.

Jodjodkaliumlösung aufträufeln.

Trocknen mit Fliesspapier.

Anilinöl auftropfen und nach einiger Zeit 2—3mal erneuern.

Xylol bis zur gründlichen Entfernung des Anilinöls.

(Celloidin braucht man im Gegensatz zu den Verfahren, die eine Differenzierung mit Alkohol bewirken, vorher nicht entfernt zu haben.)

Botkin benützt Anilin in wässriger Lösung vor der Behandlung mit Jodjodkaliumlösung, will dadurch die Niederschläge beseitigen und bleibt beim Alkohol (C. 11. 231):

Anilinwassergentianaviolett.
Abspülen der überflüssigen Farbe in reinem Anilinwasser.
Jodjodkalium — Alkohol — Xylol.

Unna empfiehlt gegen die Niederschläge Jod in statu nascendi zu verwenden; er nimmt dazu eine Mischung von 5 %iger Jodkaliumlösung mit Wasserstoffsuperoxyd (C. 3. 193).

Man kann sich Wasserstoffsuperoxyd selbst darstellen, indem man Bariumoxyd in einer Porzellanschale erhitzt und das dabei entstandne Bariumsuperoxyd in kalte verdünnte Schwefelsäure einträgt; durch Abfiltrieren vom unlöslichen schwefelsauren Baryt erhält man die Wasserstoffsuperoxydlösung. Bei der Herstellung Vorsicht vor Explosion!

E. Fränkel versuchte statt Anilin 2½ %ige Karbolsäure zu benützen (D. 85. 576). Czaplewski gibt dieser Aenderung den Vorzug und spült ausserdem die Farbe mit 2½ %igem Karbolwasser ab (Z. 12. 376):

2½ %iges Karbolgentianaviolett, ähnlich bereitet wie die Anilinfarbstofflösung.
Abspülen in Karbolwasser.
Jodjodkalium — Alkohol — Xylol.

Von den in Betracht kommenden Bakterien mit krankheitserregenden Eigenschaften behalten bei dem Gramschen Verfahren den Farbstoff:

Die eitererregenden Kokken.
Der Mikrokokkus tetragonus.
Der A. Fränkelsche Diplokokkus der kroupösen Pneumonie.
Das Mäuseseptikämie- und Schweinerotlaufstäbchen.
Der Tuberkelbazillus.
Der Leprabazillus.
Der Milzbrandbazillus.
Der Tetanusbazillus.

Dagegen geben die Färbung ab:

Der Bazillus des malignen Oedems.
Der Rauschbrandbazillus.
Der Diphtheriebazillus.
Der Rotzbazillus.
Der Typhusbazillus.
Der Friedländersche Kapselbazillus.
Der Gonokokkus.
Die Gruppe der Hühnercholera-, Schweineseuchebakterien.
Der Influenzabazillus.
Die Vibrionen, Spirillen und Spirochäten (z. B. der Cholera, des Rückfallfiebers).

4. Für Bakterien, die sich ablehnend gegen die Gramsche Behand-

lung verhalten, hat Nicolle (P. 6. 783) folgendes Verfahren vorgeschlagen:

Alkalische oder Karbol-Methylenblaulösung 1—3 Minuten;

Schwach essigsaures Wasser einige Sekunden (kann auch wegbleiben);

In Wasser gründlich abspülen;

10 %ige Tanninlösung; die Wirkung erfolgt fast augenblicklich.

Abspülung in Wasser;

Alkohol — Xylol.

Die vier angegebnen Methoden genügen, um in der grössten Mehrzahl der Fälle ein gutes und zweckentsprechendes Ergebnis zu erhalten. Bei der Darstellung gewisser Arten von Kleinwesen aber kommen noch eigene Färbungs- und Entfärbungsverfahren in Frage, die im diagnostischen Teile an den betreffenden Stellen Erörterung finden werden.

Ich will dieses Kapitel nicht schliessen, ohne auf die sog. **Plasma-** oder **Mastzellen** (Ehrlich) aufmerksam zu machen, denen man so häufig im Bindegewebe, im entzündlichen, wie auch im normalen Zustande, einzeln oder über das Gesichtsfeld verstreut, begegnet. Im Gegensatz zu den übrigen Zellen färbt sich bei ihnen der Kern nicht, wohl aber das Protoplasma, und zwar in Gestalt kleiner, feiner Pünktchen, die so sehr den Eindruck von Kokken machen, dass sie schon oft — auch geübten Mikroskopikern — Veranlassung zur Täuschung gaben; und doch sind sie an dem ungleichmässigen Korn und an den nicht ganz gleichen Begrenzungen zu erkennen; mitunter, und das vermehrt die Täuschung, liegen sogar diese Körnchen nicht mehr in der Begrenzung der Zelle, wenn diese nämlich beim Schneiden getroffen und ausgestreift wurde. Den als blassen Fleck erscheinenden Kern sieht man nicht immer, so sehr ist er von den dichten, rundlichen kokkenähnlichen Gebilden bedeckt, die mit Methylenblau einen mehr schwarzvioletten, nach Gentianaviolett- und Jodbehandlung einen rötlichen Ton annehmen, sich nach Gram also nicht entfärben.

Die kulturelle Untersuchung und ihre Hilfsmittel.

Die Zahl der Bakterien, die allein durch die mikroskopische Untersuchung unter Zuhilfenahme der Färbung sicher bestimmt werden können, ist eine sehr geringe. Ausser den Tuberkel- und Leprabazillen vermögen wir kaum noch einige wenige Arten durch die Färbung von andern zu unterscheiden. Niemand aber wird in der Lage sein, aus dem mikroskopischen Präparate allein, ohne weitere Anhaltspunkte beispielsweise Typhusbazillen, Staphylokokkus pyog. aureus u. s. w. zu erkennen. Einer der wichtigsten Punkte für die Diagnose ist die Kultur. Das makro- und mikroskopische Aussehen, wie es den verschiednen Bakterienansiedlungen eigentümlich ist, spielt eine hervorragende Rolle.

Ein allgemein brauchbarer Nährboden harrt noch der Entdeckung. Die Nährboden, die wir zur Kultivierung der einen Bakterienart mit Vorteil anwenden, lassen uns bei andern im Stich. Wir kennen aus gefärbten Präparaten eine Reihe von Kleinwesen, bei denen bisher jeder Versuch künstlicher Züchtung misslang, z. B. die Obermeierschen Spirillen des Rückfallsfiebers, gewisse in der Mundhöhle vorkommende Spirochäten, das in faulenden Pflanzenaufgüssen häufig erscheinende Spirillum undula; im Wasser, im Darminhalt sehen wir mikroskopisch eine Menge Formen, nach denen wir vergeblich fahnden, wenn wir Teilchen davon zur Plattenaussaat verwendet haben.

Die künstlichen Nährmittel müssen notwendig Wasser enthalten, darin gelöst verschiedne Mineralstoffe, Salze etc., Kohlenstoff und Stickstoff zum Aufbau der Bakterienzelle; Stickstoff wird den Kleinwesen besser in organischen Verbindungen (Eiweiss, Pepton), als in anorganischen geboten. Sauerstoff in Gasform ist nur für eine bestimmte Gruppe von Bakterien, die strengen, sog. obligaten Aërobier unbedingtes Lebensbedürfnis; andre können seiner entbehren (fakultative Aërobier), einer Anzahl ist er durchaus hinderlich für die Entwicklung (obligate Anaërobier).

Zur Züchtung der Mikroorganismen verwenden wir am geeignetsten die Stoffe, auf oder in denen sie im freien Leben unsern Beobachtungen zufolge am besten fortkommen. Finden wir eine üppige Ansiedlung auf Kartoffeln, oder sonst einem Medium pflanzlicher Herkunft, so werden wir immer gut thun, dasselbe als Nährmittel entweder in seinem natürlichen Zusammenhange oder im wässrigen Auszug herzunehmen. Das gleiche gilt von tierischen Stoffen, Organteilen, Absonderungen des menschlichen oder tierischen Körpers (Fleischsaft, Blut, Blutserum, Harn, Milch u. dgl.).

Bei der künstlichen Züchtung fassen wir in erster Linie die Reinkultur bestimmter Arten unter Ausschluss andrer ins Auge. Solange man dabei vorwiegend Flüssigkeiten verwandte, gelang sie nur mit grossen Schwierigkeiten und selten völlig einwandsfrei. Obwohl Schröter schon im Jahre 1872 farbstoffbildende Bakterien getrennt auf Kartoffeln zur Entwicklung brachte, schloss sich daran doch keine allgemeine Verwertung des Prinzips der Züchtung auf festen Nährboden. Es wurde in seiner Bedeutung erst von R. Koch gewürdigt und verfolgt und durch die Einführung **fester und gleichzeitig durchsichtiger Nährboden** mit ebensoviel Scharfsinn wie Erfolg für die wissenschaftliche Forschung ausgenützt.

Erzielung von Keimfreiheit und die dazu nötigen Mittel.

Alle zur Züchtung dienenden Dinge müssen vorher von lebenden, entwicklungsfähigen Keimen vollständig befreit sein. Das geschieht durch die **Sterilisierung.** Sie erfolgt in weitaus den häufigsten Fällen **durch Hitze.**

Gefässe werden zumeist gleichzeitig mit dem Inhalt keimfrei gemacht; öfters ist es jedoch erforderlich, ehe das Nährmittel mit ihnen in Berührung kommt.

Leere, trockne Gegenstände von Glas, Metall u. dgl., namentlich die mit Wattestopfen versehenen Reagensröhrchen, dann die Kulturplatten und -Schalen, Pipetten, Messer, Pinzetten etc. werden in **heisser Luft** ½ Stunde bei 160° C. sterilisiert.

Gefässe mit Flüssigkeiten und Nährmitteln irgend welcher Art werden für gewöhnlich zum gleichen Zwecke dem **strömenden Dampf** ausgesetzt und zwar 20—30 Minuten lang von dem Zeitpunkt an gerechnet, wo an allen Punkten die Siedehitze erreicht ist. Bei kleinern Flüssigkeitsmengen, die sich vom Anfang der Heizung an im Dampftopf befanden, ist das der Fall, wenn das Thermometer an der Ausströmungsstelle des Dampfes auf den Siedepunkt zeigt, bei grössern Mengen ist die Eindringungsdauer der Hitze verlängert; da es in der Praxis nicht möglich ist, kontrollierende Wärmemessungen innerhalb der Flüssigkeit anzustellen, so muss man nach der Erfahrung arbeiten; Mengen von 1 l und darüber lässt man 1½ und mehr Stunden im Apparat.

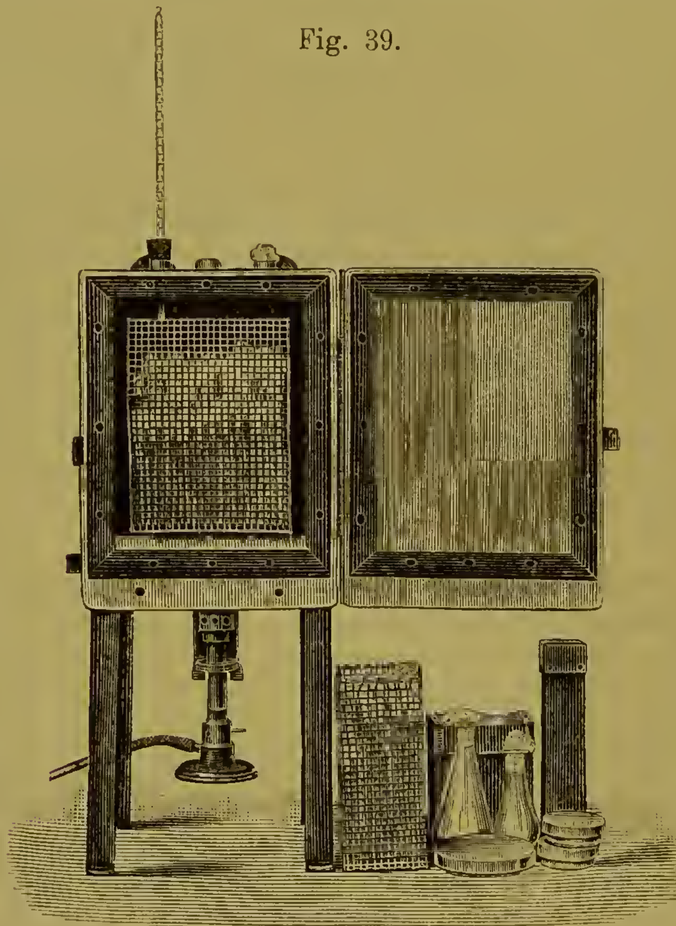
Durch die Forschungen R. Kochs und seiner Schüler wissen wir, dass feuchte Hitze weit mehr leistet, wie trockene. Während diese wenigstens 160° betragen und mindestens ½ Stunde lang einwirken muss, um widerstandsfähige Keime zu töten, gelingt die Vernichtung im strömenden Dampf von 100° schon in kürzerer Zeit, die Eindringungsdauer in tiefere Schichten natürlich immer abgerechnet. Die Feuchtigkeit unterstützt die Hitzewirkung dadurch, dass sie die mehr oder weniger zähe Membran der Kleinwesen auflockert und so dem Desinfektionsmittel den Zugang ebnet (das ist in ähnlicher Weise auch bei der Desinfektion mit Chemikalien der Fall).

Von den **notwendigen Gebrauchsgegenständen** kommt zunächst der **Trockensterilisierungsschrank** in Betracht. Ein doppelwandiger Kasten von Eisenblech einfacher Konstruktion ist ausreichend, nur wähle man ihn nicht zu gross. Ich empfehle das kleinste Muster mit innern Ausmassen von 24 : 18 : 16 cm (Fig. 39) und rate bei ausgedehnterm Betriebe lieber zwei oder mehr kleine als einen grossen Schrank zu nehmen, weil in kleinen die erforderliche Hitze leichter und rascher erreicht und eine ungleichmässige Wärmeverteilung am ehesten vermieden wird. Wo kein Heizgas zur Verfügung steht, da sind grössere Schränke überhaupt ausgeschlossen, weil die nötigen 160° mit Spiritusbrennern u. dgl. nur schwer zu erreichen sind. Schon kleine Kasten erfordern eine starke Spiritusflamme. Unter den Gaslampen gebührt dem sog Kronenbrenner (Fig. 7a) der Vorzug; er wird von einem geeigneten Bügel getragen. Der Schrank selbst steht entweder auf einem vierfüssigen Gestell, oder wird an einer soliden steinernen Wand aufgehängt. Im Innern ist er mit drei herausnehmbaren durchlochten Einsätzen ausgestattet. In die eine seiner Tubulaturen wird ein Kork mit Thermometer (bis 250° zeigend, mit Teilung auf Milchglas!) gesteckt, die andre von Watte oder Kork verschlossen. Sie ist für die Einführung eines Thermoregulators bestimmt, der jedoch in diesem Falle ganz unnötig ist. Bei einiger Aufmerksamkeit lässt sich die Hitze leicht durch Einstellung des Gashahnes regeln. Ein oder zwei Körbe aus verzinktem Eisendraht, von passender Grösse braucht man notwendig für die Reagensgläser u. dgl.; Pipetten,

Messer, Platten werden in Blechbüchsen von passender Form (Fig. 39) sterilisiert.

Andre Dinge, wie kleine Doppelschalen, bedeckte Blockschälchen u. s. w. brauchen keiner weitern Umhüllung, sie werden auf die erwähnten durchlochten Einsätze gestellt; nur ist bei Schalen die Vorsicht zu beobachten, dass während des Ansteigens der Temperatur eine Trocknung vorzunehmen ist, sonst drohen einem Verluste; man nimmt die Doppelschalen auseinander, öffnet wiederholt die Schrankthüre, um genügende Lufterneuerung zu haben und nachzusehen, bis sich keine Wassertröpfchen mehr am Glase niederschlagen; die Schalen sind dann noch nicht so heiss, dass sie nicht noch zusammengesetzt werden könnten (ausserdem anfassen mit Schmelztiegelzange!). Ist dies geschehen, dann wird die Thüre ge-

Fig. 39.



schlossen gehalten, bis die Sterilisierung beendigt ist. Unter 160° soll die Temperatur während der halben Stunde nicht für längere Zeit sinken, wohl aber darf sie höher steigen; nur leiden dabei die Glaswaren entsprechend mehr. Bei öfter als zweimaligem, auch vorsichtigem Sterilisieren in heisser Luft werden Reagensgläser vielfach unbrauchbar (rissig, rauh, undurchsichtig); namentlich sind sie nicht mehr zu Kochproben über freier Flamme brauchbar. Man setzt sie deshalb nur dann in den Trockensterilisierungsschrank, wenn sie zur Füllung mit Nährmitteln (Blutserum) oder Dingen bestimmt sind, die später nicht mehr im Dampf sterilisiert werden. Die zur Aufnahme von Nährgelatine und -Agar, Kartoffeln u. s. w. dienenden Gefässe bedürfen einer vorgängigen Heissluftsterilisation nicht.

Der einfachste **Apparat zum Sterilisieren im strömenden Dampf** ist der von R. Koch angegebne. Ein zur Aufnahme des Wassers bestimmter Topf mit kupfernem Boden und Wasserstandsrohr,

allenfalls noch mit Vorrichtung für stetigen Wasserzufluss, verlängert sich zu einem Blechcylinder von 35 cm Höhe (nicht mehr!)*) und 25 cm Durchmesser, der von schlechtem Wärmeleiter (Filz, Asbest, Linoleum) umgeben ist. Er ist mit einem leicht abnehmbaren konischen Deckel, dem sog. Helm, bedeckt, durch dessen Mitte eine Hülse zur Aufnahme des Thermometers geht. Er kann auch bei Herdfeuerung benützt, oder mit Petroleumkocher geheizt werden; bei Gas ist ein Dreibrenner nötig, dessen Wirkung durch Ummantelung erhöht wird, denn die Dampferzeugung muss eine lebhafte sein (Fig. 40). Da der Apparat allen Wasserdampf in die Luft schickt, so wirkt er in einem Arbeitsraum ohne Abzug belästigend.

Fig. 40.

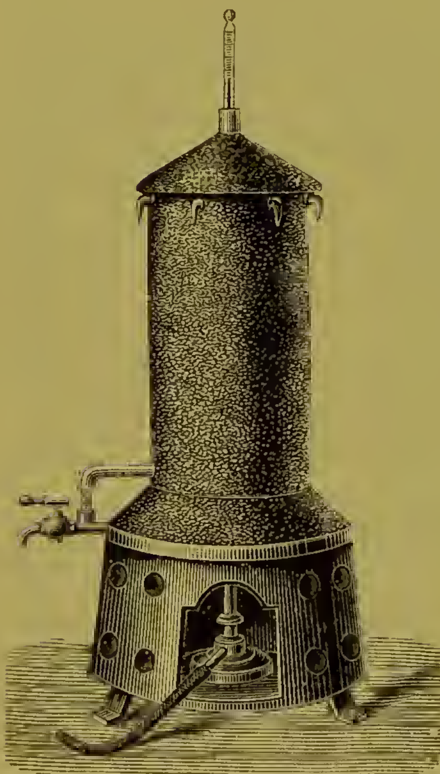
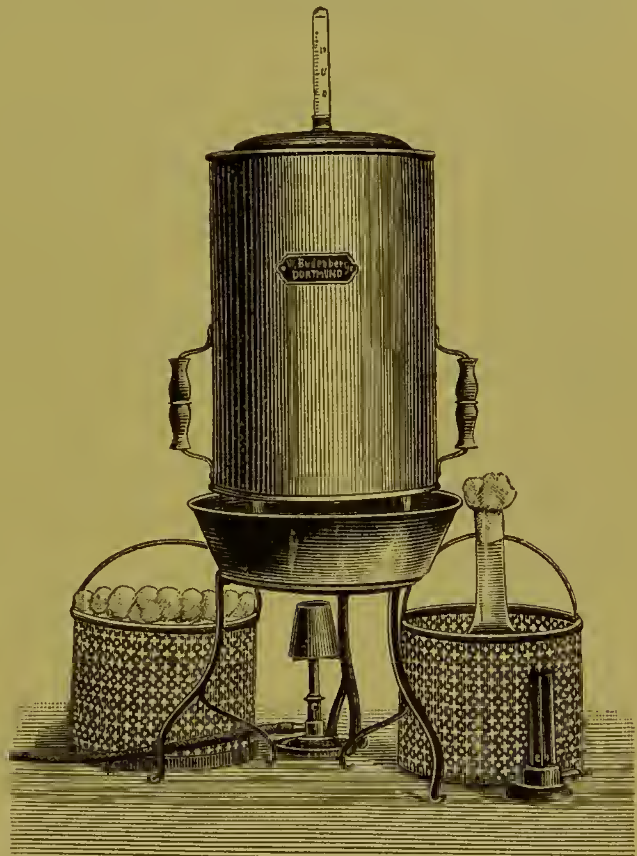


Fig. 41.



Viel weniger macht sich diese Unannehmlichkeit bei dem Dampfdesinfektor amerikanischen Systems von Budenberg (Dortmund) geltend, der ausserdem eine schwächere Heizung zulässt (Fig. 41).

Der Raum, worin das Wasser zum Sieden gebracht wird, ist kaum 1 cm hoch (im Bilde vom Ring des Statives fast verdeckt); von dem Dache dieser flachen Büchse geht ein 4 cm weites Rohr zum Boden des Desinfektionsraumes. Dieses cylinderförmige Gefäss ist von einer nur wenig weitern Glocke bedeckt, in deren Deckel das Thermo-

*) Bei höhern Cylindern ist die Siedehitze nur durch starke Feuerung (10 Flammen), allenfalls auch durch Verwendung von Kochsalzlösung statt Wasser an allen Punkten zu erreichen.

meter steckt*). Der Dampf hat Gelegenheit, auf seinem Weg zwischen den beiden Cylindern sich grösstenteils zu verdichten. Das Kondenswasser tropft in eine vor der Anheizung mit weichem, womöglich destilliertem Wasser gefüllte, offne Schale zurück, die auf der obern Wand der flachen Büchse sitzt und mit ihr zwecks Füllung und stetigen Zuflusses durch einige kleine, stets sauber und durchgängig zu haltende Oeffnungen in Verbindung gesetzt ist. Am geeignetsten ist ein Dampfentwickler zweiter Grösse mit nutzbarem Raum von 35 cm Höhe und 24 cm Durchmesser nebst Untersatz und Thermometer. Zur Anheizung ist zwar ein Dreibrenner erwünscht, später aber genügt ein Einbrenner (auch Herdfeuer, Spiritus, Benzin lässt sich verwenden).

Zu jedem Dampfapparate braucht man zwei entsprechend grosse Drahtkörbe, die übereinander gestellt werden können, sowie ein Blechgefäss mit Deckel und Gitterboden zur Sterilisierung von Kartoffeln. Sämtliche Einsätze tragen umlegbare Bügel als Handhabe.

Bei den beschriebnen Cylindern strömt der Dampf unten zu, oben ab und die Gegenstände müssen von oben eingesetzt werden. Den physikalischen Verhältnissen der spezifischen Leichtigkeit des Wasserdampfes gegenüber der Luft Rechnung tragend, leitet man besser den Dampf von oben ein, damit er sich nicht sogleich mit der Luft mischt und sie allmählich und gleichmässig nach unten vor sich her ins Freie schiebt. Für grössere Desinfektoren ist die Befolgung dieses Grundsatzes von höherer ökonomischer Bedeutung, als für kleinere.

F. und M. Lautenschläger (Berlin) haben einen allen Anforderungen der Technik entsprechenden Apparat ursprünglich für Verbandstoffe konstruiert, der namentlich für grössern Laboratoriumsbetrieb geeignet ist.

Gut ist auch der von Ostwald angegebne Desinfektor, der gleichzeitig den Vorteil der Zugänglichkeit von vorne durch eine Thüre hat. Der Dampf wird in dem etwa bis zur halben Höhe mit Wasser gefüllten doppelwandigen Mantelraum erzeugt, strömt von oben in den Binnenraum, dessen Querschnitt rechteckig ist und verlässt ihn unten durch ein Rohr, das in ein aussen stehendes Gefäss mit Wasser taucht, wo der Dampf sich verdichten muss. Zur Ermöglichung einer Vor- und Nachwärmung, sowie zur Ableitung des Dampfes während der Beschickung und Entleerung des Kastens ist ein Ventil an der Decke angebracht, mittels dessen der Dampf durch eine zweite Röhre direkt ins Wassergefäss nach aussen geleitet werden kann.

Für gewöhnliche Laboratoriumzwecke genügt aber einer der beiden erstgenannten Dampfcylinder und gebe ich dem amerikanischen den Vorzug.

Ein Praktiker, der mangels irgend welcher Laboratoriumseinrichtungen Sterilisierungen im strömenden Dampf vornehmen will, erreicht das Ziel mittels eines Blechcylinders, der irgend einem für

*) Die Fabrik liefert die Kupferglocke oben mit zwei Holzknöpfen. Diese brechen aber über kurz oder lang ab. Ich habe mir deshab vom Klempner zwei seitliche Handhaben so tief anbringen lassen, dass die Glocke bequem gehoben werden kann.

Herdfeuerung bestimmten Topf von etwa 20 cm Durchmesser aufgesetzt wird. Der Cylinder soll etwa 25 cm hoch sein und einen Durchmesser haben, der ihn gerade in den Topf einzuführen gestattet. Etwa 2 cm von seinem untern Ende entfernt, ist ein Blechkranz aussen herum angebracht, womit der Blechcylinder auf dem obern Rande des Topfes ruht. Der Cylinder hat etwa in gleicher Höhe innen einen durchlöcherten Boden, auf den die zu sterilisierenden Dinge gestellt werden, und ist von einem Deckel bedeckt, ähnlich wie der des Sputumdesinfektors in Fig. 124 (v. Esmarch, H. 2. 659).

Strömender Dampf genügt den Anforderungen der Sterilisationstechnik im allgemeinen. In vollkommener ausgestatteten bakteriologischen Arbeitsräumen sollte jedoch ein **Digestor für gespannten Dampf** (Autoklav oder Papinscher Topf) nicht fehlen. Der Apparat muss sehr zuverlässig hergestellt und auf wenigstens zehn Atmosphären Druck geprüft sein. Er ist erheblich teurer und etwas umständlicher zu handhaben, hat jedoch den Vorteil, höhere Temperaturen bei gleichzeitigem höherem Druck zu geben, so dass auch die allerwiderstandsfähigsten Keime binnen kurzer Zeit sicher vernichtet werden können.

Für gewöhnliche Zwecke rate ich zu einem Kessel von 30 cm innerer Höhe und 20—21 cm Durchmesser. Die Hinzunahme des zwar teuern, aber sehr vorteilhaften Dampfdruckregulators nach Gartrell lässt sich kaum umgehen; er gestattet die Gleichhaltung des Drucks und verhindert ein Zuheisswerden der Wände und damit eine Ueberhitzung des Dampfes, weil er selbstthätig die Flamme reguliert. Er ist für Gasheizung bestimmt.

Ueberhitzter Dampf nimmt an keimvernichtender Kraft in dem Grade ab, als er trockner wird. Nur so lange die Hitze im Kessel nicht höher ist, wie sie dem Druck des gesättigten Dampfes entspricht (120,6° bei 1 Atmosphäre, 133,9° bei 2 Atmosphären Ueberdruck), ist die volle Leistungsfähigkeit zu erwarten. Ueber die Richtigkeit des Verhältnisses können nur die gleichzeitigen Angaben von Thermometer und Manometer Aufschluss verschaffen, die Beobachtung des Manometers allein genügt auch noch zur Erkennung des richtigen Standes der Verhältnisse vorausgesetzt, dass vor dem Abschluss der Auslassöffnungen aller im Apparat befindlichen Luft Zeit gegeben wurde, mit dem strömenden Dampf zu entweichen; niemals aber würde ein Thermometer allein den richtigen Einblick gewähren.

Sind die keimfrei zu machenden Dinge in geeignetem Drahtkorb auf eine Unterlage (damit sie nicht im Wasser stehen) in den mit 1—2 l weichem (destilliertem) Wasser gefüllten Autoklaven gestellt, so wird der Deckel genau auf die vorhandene Bleidichtung aufgesetzt (eine Marke oder zwei Zahlen dienen als Richtschnur, Fig. 42), der schmiedeeiserne Bügel übergeschoben und seine Schraube angezogen, zunächst nur soweit, dass sie lose auf den Mittelpunkt des Deckels drückt. Dann wird die Gummischlauchverbindung des auf die gewünschte Atmosphärenzahl eingestellten Gartrellschen Regulators mit dem Gasauslass einerseits, mit dem Brenner andrerseits bethätigt und die Flamme angezündet: diese muss genau in der Mitte des Bodens wirken. Jetzt wartet man, bis nach Erreichung der Siedehitze der Dampf mehrere Minuten reichlich ausgeströmt ist, dann wird die Schraube am Bügel festgezogen und jene am Ablasshahn geschlossen. Nach Beendigung der Desinfektion wird der Ablasshahn zuerst geöffnet, ohne die Flamme zu löschen. Zum Schutz vor Schwängerung der Zimmerluft mit Wasserdämpfen habe ich ein eignes rechtwinklig gebognes Messingrohr, das im Bedarfsfalle an die Ablassöffnung mittels Mutterschraube angemacht wird, mit so langem absteigenden Schenkel machen lassen, dass seine Ausführungsöffnung bequem in ein am Boden stehendes Gefäss mit kaltem Wasser taucht, wo sich der Dampf unter Knattern verdichtet. Ist das Manometer auf 0 gesunken,

so kommt dieses Rohr wieder weg. Dann wird vorsichtig die zentrale Bügelschraube gelockert und die Flamme abgelöscht. Verfährt man anders, so kann sich im Innern des Kessels durch Abkühlung und folgende Dampfverdichtung ein Vakuum bilden, das Wasser im Kessel bis in die Reagensröhrchen steigen, oder deren Inhalt herausgeschleudert werden.

Zur Heizung der Digestoren dienen eigene Gasbrenner, die vielflammig und nieder sein müssen; um sie ausserdem zu gewöhnlichen Kochzwecken benützen zu können, ist ihnen auch wohl noch ein kleiner Aufsatz beigegeben (Fig. 48).

Drahtkörbe und Untersätze (damit die Gegenstände nicht im Wasser stehen müssen) werden den Apparaten, wie ich erfahren musste, nur auf Bestellung beigegeben; ebenso Thermometer von geeigneter Form; sie können nur nach Abschraubung einer Hülse, in der sie sonst in der Regel stecken, und die zur bessern Wärmeleitung mit Oel gefüllt wird, zur direkten Bestimmung der Hitze im Innern benützt und müssen dann durch Gummidichtung und Verschraubung vorm Herausfliegen geschützt werden.

Fig. 42.



Weiteres über Einrichtung, Funktionierung und Bedienung der Apparate, sowie des Gartrellschen Druckregulators s. bei H. Rohrbeck (J. F. Luhme in Berlin) in dessen Sonderverzeichnis von Desinfektoren und in den ihm beigegebnen Originalabhandlungen.

Will man in Ermanglung eines Digestors Hitzegrade über 100° zur Keimfreimachung benützen, so ist das in einer etwas umständlichen und meist nicht ganz zweckentsprechenden und zuverlässigen Weise durch Salz-, Oel- und Paraffinbäder zu erreichen.

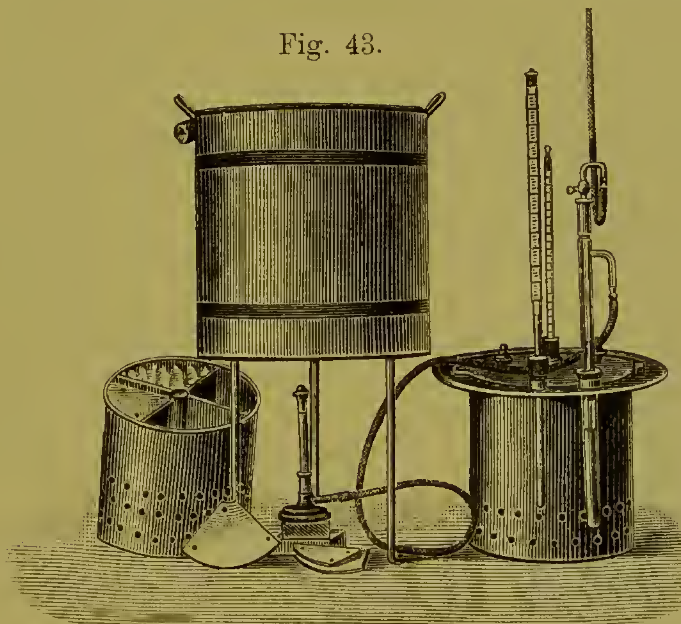
Manche Dinge vertragen höhere Temperaturen nicht; sollen sie keimfrei gemacht werden, so muss man sich entweder mit niederern Wärmegraden behelfen oder zu Chemikalien greifen.

Die Temperaturen müssen aber mindestens so hoch sein, dass

sporenfreie Bakterien dabei zu Grunde gehen; das geschieht zwischen 58° und 80°. Auch die sporentragenden werden theoretisch durch wiederholte Einwirkung solcher Wärmegrade unschädlich gemacht, wenn man ihnen Zeit und Gelegenheit zum Auskeimen gibt. Man wartet zwischen jeder Sterilisierung etwa 20—24 Stunden, setzt die keimfrei zu machenden Dinge unterdessen in den Brutschrank von 37° und wiederholt die Erhitzung täglich etwa eine Woche lang. Ganz sichere Ergebnisse lassen sich dabei in Wirklichkeit nicht erreichen, doch immerhin zufriedenstellende. Diese **diskontinuierliche Sterilisation** rührt von Tyndall her.

Dafür gibt es einen Apparat nach Kochschen Angaben, der früher zur Sterilisierung des Blutserums vielfach in Gebrauch war; er ist aber in Abnahme gekommen, nachdem sich herausgestellt hat, dass die zur Gerinnung des Serums anzuwendende einmalige Erwärmung auf 65—70° hinreicht, um nicht mehr wie etwa 10 % der gefüllten Reagensröhrchen durch nachträgliche Verunreinigungen zu verlieren.

Fig. 43.



Die Gerinnung kann in einem nicht zu grossen Brutschranke vorgenommen werden, der mit Einsätzen versehen ist, um die Reagensröhrchen schräg legen zu können (Fig. 54). Der Innenraum sei etwa 25:24:25 cm gross; an den Seitenwänden sind zwei Leisten für vier flache Einsätze mit geschrägtem Boden angebracht. Glasthüre hinter der doppelwandigen Thüre. Filzbekleidung, Wasserstandsrohr, Ablasshahn. Vierfüssiges Gestell als Träger. Wird der Kasten nicht als Brutschrank, sondern zur Gerinnung gebraucht, so muss der etwa eingesetzte Thermoregulator weggenommen werden! Die frühern flachen, schräg gestellten Wärmekästen zum Erstarren des Blutserums sind überflüssig.

Nur für die Fälle, wo nicht geronnenes, flüssiges Blutserum zu Züchtungszwecken verwendet werden soll, empfiehlt sich noch eine diskontinuierliche Sterilisation. Ich habe mir den ziemlich teuern Kochschen Apparat durch einen billigern ersetzt, bei dem die Reagensröhrchen, durch Bleiplatten beschwert, im Wasserbade stehen,

statt in dem schwer gleichmässig warm zu bekommenden Luftbade (Fig. 43).

Er besteht aus einem Blechtopf mit Asbestbekleidung von 30 cm Höhe und 28 cm Durchmesser, der zur Hälfte mit warmem Wasser von der gewünschten Wärme gefüllt wird. In ihn hinein kommt ein cylinderhutähnliches Gefäss (21 : 20 cm), das seitlich durchlöchert ist und eine 4,5 cm breite Krempe mit zwei Hülsen für Thermometer und Thermoregulator besitzt; diese Krempe ruht auf dem Rand des grössern Topfes und trägt einen mit Bajonettverschluss versehenen Deckel. In dieses zweite Gefäss wird nun der durchlochte Einsatzkorb mit den Reagensgläsern gestellt; damit sie gut stehen, ist der Korb innen durch zwei sich kreuzende Querwände in vier Abteilungen gebracht; für jede Abteilung ist eine Bleiplatte vorhanden, die auf die Wattestopfen der Reagensröhrchen zur Beschwerung gelegt wird. Der Apparat ruht auf einem Dreifuss.

Die Zahl der zur Keimfreimachung von Nährmitteln verwendbaren **Chemikalien** ist nur klein. Bloss solche sind zu gebrauchen, die sich leicht und vollständig wieder entfernen lassen, ohne das Mittel verändert zu haben. Das ist z. B. der Fall bei dem eigens zur Sterilisierung des Blutserums (Koch, Kirchner) herangezognen Chloroform. Freilich braucht es einer wochen- und monatelangen Einwirkung unter Schutz vor Licht und Verdunstung. Hat es dann seine Arbeit gethan, so ersetzt man im Gebrauchsfalle den Gummi- durch einen Wattestopfen und lässt das Chloroform etwa unter Zuhilfenahme höherer Wärme (Brutschrank) verflüchtigen. Aether, der den Vorteil hat, bei 30° schon zu sieden und sich deshalb (zumal bei Verwendung der Luftpumpe) leichter austreiben zu lassen, eignet sich speziell für Blutserum nicht, weil er mit ihm eine dicke, gelbe, undurchsichtige Flüssigkeit gibt. Wollny (C. 11. 752) und Reinsch (C. 12. 30) empfehlen ihn jedoch zur Sterilisierung andrer eiweisshaltiger, Hitze nicht vertragender Nährboden. Erfolg ist nur zu erwarten, wenn keine besonders widerstandsfähigen Sporen vorhanden sind, und wenn der Aether lange genug hatte einwirken können.

Ich habe einmal einen vergleichenden Versuch angesetzt und gefunden, dass an Seidenfäden angetrocknete Milzbrandsporen abgestorben (—) oder am Leben geblieben (+) waren

nach Tagen	in Aether	in Chloroform, Chloroformwasser 1 : 10, Aetherwasser 1 : 10	in 5%iger Karbolsäurelösung
16, 31, 45, 60	+	+	+
77	—	+	+
93	—	+	—
143	—	+	—

Andre Antiseptika und Desinfizientien nicht flüchtiger Natur, namentlich Sublimat taugen nicht zur Sterilisierung von Nährlösungen. Sublimat wirkt schon in den stärksten Verdünnungen giftig und entwicklungshemmend auf die Bakterien und lässt sich nicht aus den Substraten herausschaffen, ohne sie zu verderben. Sublimat darf weder mit einem Messcylinder, noch mit einem Topf, noch mit andern Geräten, die irgend bei der Anfertigung von Nährmitteln in Frage kommen, in Berührung gebracht werden. Ausnahmen hat man nur bei der Reinigung der ungeschälten Kartoffeln

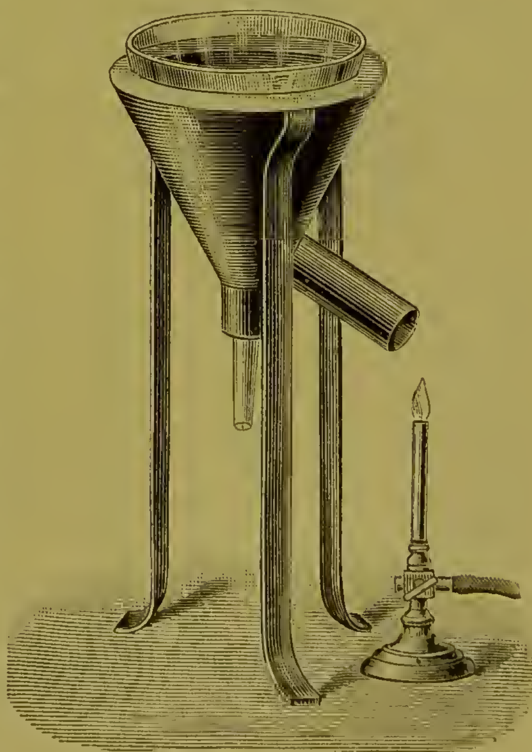
gemacht, die aber zum mindesten in einer eignen Schale vorgenommen werden muss, sowie bei der Herrichtung der grossen Cylinder zum Auffangen des Blutes, die eine Erhitzung nicht aushalten. Man hat sie mit Sublimatlösung gespült und diese durch Alkohol zu entfernen gesucht, indem man darauf rechnete, dass allenfalls noch zurückgebliebene Spuren von Quecksilberchlorid mit dem Eiweiss sich zu unlöslichem und deshalb unschädlichem Quecksilberalbuminat vereinigten. Es reicht aber eine gründliche mechanische Reinigung mit ausgekochtem Tuch und dem noch warmen Wasser, mit oder ohne Vorspülung mit schwacher Sodalösung und Nachbehandlung mit Alkohol aus.

Früher hatte man die Gepflogenheit, alle bei den Züchtungen u. s. w. gebrauchten Dinge in einen Topf mit Sublimat zu werfen, aus dem sie nach einiger Zeit herauskamen, gespült und von neuem verwendet wurden. Ich habe es einmal erlebt, wie infolge dieses Verfahrens die ganze Arbeit in den Laboratorien einer grössern Anstalt, und sämtliche Reinkulturen in der empfindlichsten Weise gestört wurden. Jetzt kochen wir alle Gegenstände, die bei bakteriologischen Untersuchungen zur Verwendung kamen, in Wasser oder 1 %iger Sodalösung aus.

Andre zur Bereitung der Nährboden nötige Gebrauchsgegenstände und Chemikalien.

Heisswassertrichter einfach wandig mit oberer, nach innen ragender Krempe und weitem Halse, in dem ein durchbohrter Kork- oder Gummistopfen zur wasserdichten Einfügung des Ausflussrohrs eines Glas- oder Emailtrichters sitzt. Seitlich ist ein Fortsatz angebracht, unter den die Flamme gestellt wird, es müsste denn sein, dass um die ganze Aussenwand des Trichters ein Heizkranz kleiner Flämmchen gelegt ist. Statt ein eignes Stativ dazu zu benützen thut man gut, gleich drei Füsse annieten zu lassen (Fig. 44). Der Durchmesser des Trichters betrage 15 cm.

Fig. 44.



Weit vorteilhafter ist ein **Dampftrichter**, wie ihn Unna (C. 9. 749) angab, und der von mir mit notwendigen Verbesserungen versehen wurde.

Der in Fig. 45 in Thätigkeit zu sehende Apparat besteht aus einer kupfernen Hohlkugel, deren oberer Abschnitt den abhebbaren, mit Gummi- oder Asbestkranz gedichteten Deckel bildet. Durch die Schraube des am dreifüssigen Stative befestigten, umlegbaren Bügels wird er fest gegen das Unterteil gedrückt. Von diesem geht seitwärts ein hohler Fortsatz, wie beim gewöhnlichen Heisswassertrichter ab, worunter

auf einer Unterlage stehend, der Brenner gesetzt wird. Zur Vermeidung des Durchschlagens der nieder geschraubten Flamme habe ich ihn mit Nickeldrahtnetzkappe bedeckt. Der auf dem Tisch hinten stehende Blechtopf enthielt die Nährmasse (Gelatine oder Agar), die nun im Trichter zu denken ist, und gerade in den untergestellten Glaskolben filtriert. Der Kolben ist durch einen untergelegten Holzklotz in die richtige Höhe gebracht und steht zunächst auf Filtrierpapier, damit bei etwaigem Danebengehen von Tropfen der gelatinierenden Nährmasse der Flaschenboden nicht am Holzklotz festgeleimt werden kann.

Den aus vernickeltem Kupfer hergestellten Trichter habe ich (im Verhältnis zum Apparat grösser) in der Fig. 46, in der von mir verbesserten Form wiedergegeben. Zur Vermeidung von Hineinsprudeln des ihn umgebenden Wassers liess ich ihn mit einem Deckel

Fig. 45.



Fig. 46.



versehen, der auf dem nach innen geneigten oberen Trichterrand lose aufsitzt und zur sichern Wirkung des Dampfdruckes neben seiner ringförmigen Handhabe von drei kleinen, von innen nach aussen durchgeschlagenen Löchern durchbohrt ist. Der Hauptnachteil lag früher in der Gummidichtung zwischen Kupferblase und Trichterausfluss. Schon nach einmaligem Gebrauche hatte der Gummi durch die hohe Hitze derart gelitten, dass er spröde, undicht wurde und Wasser aus der Kupferblase in das bereits filtrierte Nährmittel floss.

Darum liess ich einen Metallkonus um das Trichterrohr löten, der genau in ein Stückchen im untern Fortsatz der Kupferblase festgelötetes Metallrohr passt. Mit grösster Leichtigkeit lässt sich nun der Trichter einsetzen oder herausheben. Sitzt er, so kann durch diesen Ventilverschluss, der den bei Badewannenausflüssen gebräuchlichen nachgebildet ist, kein Tröpfchen Wasser heraus.

Die Instandsetzung geschieht folgendermassen: Der Trichter wird zunächst herausgenommen, der Ventilverschluss mit einem Tuch

gereinigt, ein Filterschutz auf den Grund des Trichters gelegt und dann ein bis zum Rand des Trichters reichendes Papierfilter eingelegt.

Der Filterschutz soll das Filter vor Zerreissen schützen, wie es durch die Schwere der eingebrachten Flüssigkeit, namentlich aber bei etwas vermehrter Dampfspannung im geschlossnen Raum leicht möglich ist. Er hat die Form eines kleinen Kegels und ist durchlöchert, wie der in der Fig. 45 vor dem Untersatz des Gasbrenners stehende. Derartige Einlagen von Porzellan aber liegen der Trichterwand infolge ungleichmässiger Herstellung oft nur mangelhaft an und die dadurch gesetzten Zwischenräume lassen keine Dampfspannung im Innern entstehen. Ich habe deshalb vom Klempner zu meinem Trichter genau passende, gut anschliessende nur gegen die Spitze zu durchlochte Einlagen aus Nickel fertigen lassen. In Ermanglung eines derartigen Filterschutzes nehme man ein halbkreisförmig geschnittenes Stück Barchent (Halbmesserlänge der innern Trichterwand, 14—15 cm) und vereinige es mittels Naht zu einem Filter. Barchent allein hält die trübenden Stoffe nicht genügend zurück; stets muss man noch ein Papierfilter darüber legen.

Das Filter selbst ist bei Gelatine ein Faltenfilter in doppelter Lage. Bei Agar nimmt man als eigentlich filtrierende Masse besser Kieselgur (nur beim Dampftrichter anwendbar, beim Heisswassertrichter ist man ebenfalls auf doppeltes Faltenfilter angewiesen). Wir kleiden die Innenseite des Trichters zuerst mit einer einfachen Lage nicht gefalteten Filtrierpapiers glatt aus und schütten auf den Grund 0,2—0,4 g Kieselgur, der zur Unschädlichmachung etwa anhaftender widerstandsfähiger Keime geglüht worden war.

Haben wir den Trichter in die Kupferblase eingesetzt, so füllen wir den zwischen beiden Wänden befindlichen Raum soweit mit heissem Wasser, dass der Spiegel etwa drei Finger unterhalb des obern Trichterrandes steht. Das Wasser wird am bequemsten mit einem Trichter von Emailblech eingefüllt, dessen Ende mit einem Gummischlauch und winklig gebognem Glasrohr versehen ist. Dann zünden wir die Flamme unter dem Fortsatz des Trichters an.

Ist das Wasser zum Sieden gekommen, und ist die Nährlösung zum Filtrieren fertig, so feuchten wir erst das Papierfilter mit etwas heissem destilliertem Wasser an, und giessen die möglichst heisse Nährlösung so auf, dass die Masse die Wand und nicht den Grund des Filters trifft.

Hierauf kommt erst die Blechhaube auf den Trichter, endlich der Deckel auf die Kupferblase. Das kleine Ventil bleibt bei Gelatine offen, bei Agar wird es alsbald geschlossen, der Bügel aufgestellt und die Schraube fest angezogen. Die Dichtung ist durch den Gummi- oder Asbestkranz gewährleistet.

Zu hohe Dampfspannung zeigt sich aussen sofort durch grössere Blasen an, die den tropfenweisen Filtergang unterbrechen. Man hat dann entweder für kurze Zeit den Ventilhahn zu öffnen oder die Flamme niederzuschrauben. Gibt man nicht Obacht, so reisst im schlimmsten Fall das Filter.

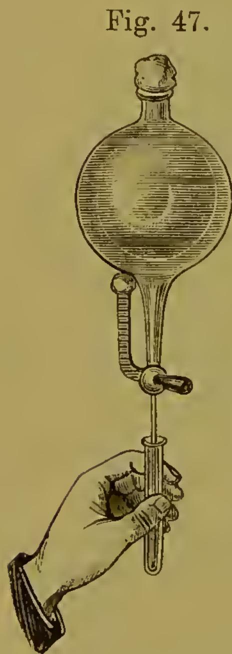
Der Vorteil des Dampftrichters liegt in der kürzern Dauer des Filtrierens, in der Gasersparnis und in der Möglichkeit, auch höher prozentuierte Agarlösungen klar filtrieren zu können.

Da ein Laboratorium mit einigermassen grössern Betrieb an und für sich zweier Trichter bedarf, so rate ich neben einem gewöhnlichen Heisswassertrichter einen Dampftrichter anzuschaffen und hinsichtlich der Grösse zu Trichtern von 1 l Inhalt*).

Als Improvisation ist die von Schill angegebne Vorrichtung anzusehen. Schill empfahl zum raschen Filtrieren der Gelatine, den Boden einer Konservenbüchse mit der Ahle zu durchlöchern, darüber Filtrierpapier und doppelte Lage entfetteten Mulls zu ziehen, die mit einem aussen angelegten Gummiband festgehalten werden. Die grosse Fläche beschleunigt die Filtration. Noch schneller geht sie, wenn die offene Büchse durch eine Flasche aus Blech, Glas oder Porzellan ersetzt wird, deren Boden durchlöchert und aussen in ähnlicher Weise überzogen ist. Im Pfropf der Flasche steckt ein fast bis zum Boden führendes Trichterrohr, durch das die Gelatine eingefüllt wird, jedoch vorsichtig und langsam, damit von dem innen entstandnen Druck die Filterschicht nicht abgerissen wird (C. 10. 659).

Abfülltrichter. Hat man beim Einfüllen der Nährmittel in die Reagensgläser auf genaue Mengenverhältnisse nicht zu rücksichtigen, so nimmt man irgend einen Trichter von Glas oder Emailblech, zieht unten ein kurzes Stückchen Gummischlauch über, woran ein Quetschhahn sitzt, und steckt ans andre Ende des Schlauches eine Irrigatorspitze oder ein Glasröhrchen. Der Trichter wird in den Ring eines Stativs gehängt und sein unteres Ende ausserdem durch eine ebenfalls am Stativ befestigte Klemme (Fig. 50 S. 77) festgehalten. Beim Einfüllen sehe man sich vor, dass kein Tropfen der Nährlösung an die Stelle des Glases kommt, wo der Wattepfropf sitzt.

Fig. 47.



Genauere Mengenabmessung wird mit dem Treskowschen Fülltrichter erreicht. Er ist eine Art Scheidetrichter; von dem mit einer rechtwinkligen Bohrung versehenen Hahn geht ein kleines Messgefäss U-förmig nach oben ab, in das bei der ersten Drehung des Hahns das Nährmaterial einströmt, während bei der zweiten Drehung der Abfluss der nunmehr abgemessnen Menge in das untergehaltene Gefäss von statten geht (Fig. 47).

Kommt es aber darauf an, ganz genau abgemessne Volumina abzufüllen, so muss man sich der Büretten bedienen.

Eine **Fleischhackmaschine** ist, wenn das Fleisch nicht schon gehackt bezogen wird, was nie ganz zuverlässig, auch teuerer ist, zur Anschaffung zu empfehlen. Weniger wichtig ist eine Fleischpresse,

*) Klempnermeister Joseph Mayer, Würzburg, Eichhornstr. 18, liefert jetzt den Dampftrichter mit der oben beschriebnen Verbesserung um den Preis von 25—30 M., während man für den ursprünglichen bei Bauer & Häselbarth in Eimsbüttel-Hamburg 40 M. geben musste.

zumal wir jetzt zumeist nicht mehr den Saft auspressen, sondern das gehackte Fleisch gleich in Wasser auskochen.

Das geschieht in einem nur für diese Zwecke gebrauchten Emailtopf von 2—4 Liter Inhalt. Zwischen ihm und der Flamme liegt auf dem Dreifuss eine Asbestplatte zum Schutz vorm Anbrennen des Inhaltes: zeitweilig wird mit einem Kochlöffel umgerührt. Die weitere Bereitung der Nährgelatine u. s. w. erfolgt statt in den zerbrechlichen Bechergläsern oder Glaskolben in becherförmigen Emailgefässen mit Deckel und beweglichem Drahtbügel als Handhabe, wie sie in Klempner- u. dgl. Geschäften unter dem Namen der „Suppentöpfe" (Fig. 45, 48, 49) zu haben sind. In der Regel bedarf man eines solchen von $10\frac{1}{2}$ cm Höhe und 10 cm Durchmesser für $\frac{1}{2}$ Liter Nährsubstrat bei etwa $\frac{3}{4}$ Liter Inhalt, die grössern (15 : 13 cm) fassen etwa $1\frac{1}{2}$ Liter und reichen für Bereitung von etwas mehr als 1 Liter. Zum Umrühren gehören, namentlich wenn nur Bechergläser u. dgl. verwendet werden, Glasstäbe, an deren Ende ein Stückchen Gummischlauch übergezogen ist, so dass es den Stab noch etwas überragt (sog. Rührstab, Fig. 48 S. 74).

Wagen, Messcylinder, Messkolben, Büretten (S. 24), Medizinflaschen zu 100 ccm Inhalt nebst passenden Kautschukstopfen.

Für die Herrichtung von Nährmitteln aus Kartoffeln sind nötig: eine Schüssel zum Abwaschen nebst Bürste, eine Schale für Sublimatlösung, Küchenmesser, sog. Kartoffelmesser mit Bleibeschwerung im Hefte, dazu passende Büchse von Eisenblech mit Deckel ohne Handhabe (Ausmasse 19 : 6 : 6 cm), ein Korkbohrer und ein Reibeisen. Der Korkbohrer gehört in diesem Fall zum Ausstechen cylindrischer Stücke aus den Kartoffeln, die schräg halbiert in Reagensgläser gesteckt werden sollen. Cylinder von grösserm Durchmesser, die in dünne Scheiben zerlegt und in kleinen Glasdoppelschalen von etwa 40 mm Durchmesser (der untern Schale) untergebracht werden, gelingen, wenn man sie nicht mit dem Messer schnitzen will, am schönsten mit dem Kartoffelbohrer nach Král*). Ein Cylinder aus Messing von 7 cm Länge; er hat an der schneidenden mit Facette versehenen Oeffnung ca. 39 mm, an der andern, mit einem angelöteten Messingdraht als Rand versehenen Oeffnung ca. 41 mm Durchmesser; in ihm steckt ein passender Stempel, der zum Nachschieben der Kartoffel dient.

Chemikalien. Gelatine. Tafeln weisser „Speisegelatine". Infolge verschiedner Behandlung bei der Herstellung ist ihr Gehalt an Säure, Salzen u. s. w. verschieden nach Art und Menge. Es ist daher die Bezugsquelle nicht gleichgültig, ja manche Präparate scheinen sogar Stoffe zu enthalten, die nachteilig für das Wachstum der Bakterien sind.

Leider hat sich bis jetzt niemand der Aufgabe unterzogen, eine genaue chemische Analyse von Tafeln verschiedner Herkunft vorzu-

---

*) Král, allen Besuchern von Fachausstellungen durch die vortrefflichen Präparate von Dauerkulturen gewiss bekannt, hat viele der Kunstgriffe und Behelfe, die zur Erzielung seiner schönen Erfolge führten, eingehender in der Z. 4. 144 (Soyka & Král) und 5. 497 beschrieben, worauf hier verwiesen sein möge.

nehmen, nur Petri suchte und fand in mehrern deutliche Mengen von Nitraten (C. 5. 457). So ist man denn auf das Vertrauen angewiesen und versucht es erst mit einer Portion oder bezieht von Firmen, deren Lieferung bis jetzt noch zu keiner Beanstandung Anlass gegeben hat*). Die Gelatine soll nicht zu gelb aussehen, die Gallerte, die sie liefert, nicht zu weich sein; schon hier bestehen merkliche Unterschiede in den Fabrikaten; noch mehr in dem Säuregehalt; ich habe einmal zwei Präparate verglichen; das eine brauchte auf 100 g berechnet 23, das andre 39 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. Darüber muss man sich Kenntnis verschaffen, um bei der Neutralisierung des Nährbodens Anhaltspunkte zu haben. Einmal störte mir eine Gelatine zeitweilig den ganzen Arbeitsbetrieb, weil sie von der Fabrik her mit Keimen behaftet war, die sechsstündiges Erhitzen im strömenden Dampf aushielten (C. 13. 649).

Eine 10 %ige Gelatinemasse wird bei 22—23° C. weich und schmilzt etwa bei 25°. Durch peptonisierende Fermente wird der Leim in flüssiges Leimpepton übergeführt, daher die Verflüssigung, die gewisse Bakterienkulturen bewirken. Längeres Erhitzen, übermässige Alkalisierung, gewisse Chemikalien (z. B. Karbolsäure) beeinträchtigen die Erstarrungsfähigkeit.

Wegen ihres nieder liegenden Schmelzpunktes eignet sich die Gelatine nicht für Züchtungen bei Körperwärme. Für solche Zwecke machen wir den festen durchsichtigen Nährboden mit Hilfe von

Agar. Er ist ein viel indifferenterer, wie man annehmen kann, gleichmässiger zusammengesetzter Stoff pflanzlicher Herkunft (aus Tangen des Meeres) und geht im Handel in Form von Federkielinhalt oder in Gestalt vierkantiger Säulen (Fig. 50) unter dem Namen Agar-Agar. Fein zerschnitten ins Wasser gethan, löst er sich widerstrebend bloss nach längerm, etwa ½ stündigem Kochen über freiem Feuer auf und bildet dann eine schwer zu filtrierende und zu klärende Masse von völlig neutraler Reaktion, die bei 40—42° C. starr wird und sich erst im Wasserbade von 98° wieder erweichen lässt. Da wir es hier nicht mit Leim, sondern mit einem Kohlehydrat zu thun haben, kann von einer Wirkung peptonisierender Fermente nicht die Rede sein: es gibt keine Bakterien, die eine Agarmasse zu verflüssigen vermöchten. Die Agarlösung wird in der Regel 1¼—2 %ig, in Ausnahmefällen auch 3 und 4 %ig gemacht, und genügt allen Anforderungen an Beständigkeit bei höhern Wärmegraden, die zur Züchtung in Betracht kommen. Ersatzmittel sind daher, wenn sie nicht besondern Zwecken dienen sollen, überflüssig. Als solche wurden empfohlen: Kieselsäure (Cr. 8. 410; C. 10. 209), Fucus crispus (C. 3. 540), Carragheen oder irisches Moos (J. 2. 431), Sphärokokkus confervoides (C. 10. 122).

Unter den **Pepton**-Pulvern wähle man nur weisse (Peptonum siccum puriss.). Auch davon sind die verschiedensten und durchaus nicht immer gleich gute Präparate im Handel. Bis jetzt habe ich noch kein Präparat gefunden, welches das von Witte in Rostock bezogne übertroffen hätte. Im Interesse gleichmässiger Ergebnisse würde ich

*) z. B. in Berlin bei Hesterberg, Luisenstrasse; Kahlbaum, Schles. Strasse 16; Schering, Chausseestrasse; in München bei C. Buchner & Sohn, Karlstrasse.

vorschlagen, nur Wittesches zu nehmen. Es reagiert alkalisch, aber nicht immer ganz gleich stark.

Kochsalz, Soda, Kalium-, Natriumhydrat, Zitronen-, Milch-, Oxal-, Mineralsäuren, ameisensaures und indigschwefelsaures Natron, Traubenzucker und andre Chemikalien, die zur Herstellung der Nährboden nötig sind, sowie die verschiednen Indikatoren sollen nur in vollkommen chemisch reinen Präparaten Verwendung finden*). Merck (Darmstadt) liefert eigens hergestellte „pro analysi“, die nur wenig teurer und von besondrer Güte sind. Sie werden an trocknem Orte und stets unter Paraffinverschluss aufbewahrt.

Normallösungen sind bekanntlich solche Lösungen in 1 Liter Wasser, die den betreffenden Körper in dem seinem Atom- oder Molekulargewicht entsprechenden Verhältnis enthalten, so z. B.

Oxalsäure $C_2H_2O_4 + 2\,H_2O$	$= \frac{126}{2} =$	63 g
Salzsäure HCl	$=$	36,5 g
Schwefelsäure H_2SO_4	$= \frac{98}{2} =$	49 g
Kaliumhydrat KHO	$=$	56 g
Natriumhydrat NaHO	$=$	40 g
Natriumkarbonat Na_2CO_3	$= \frac{106}{2} =$	53 g
Natriumkarbonat krystallisiert $Na_2CO_3 + 10\,H_2O$	$= \frac{286}{2} =$	143 g.

Ihre Herstellung ist ziemlich zeitraubend, aber für viele Zwecke nicht zu umgehen. Dem Besitzer einer Analysenwage und einer Mohr-Westphalschen Wage oder eines Aräometersatzes bereitet sie keine Schwierigkeiten. Andernfalls müssen sie aus einer Apotheke, chemischen Fabrik u. dgl. bezogen werden. Leider aber ist ihre Haltbarkeit nur eine begrenzte. Am besten lässt sich Normalschwefelsäure in wohl gereinigten und gut verschlossnen (paraffinierten) Flaschen aufbewahren. So lange sie richtig sind, lassen sich die Laugen und von diesen wieder andre Säuren in Normallösungen erhalten, wenn genau gleiche Mengen beider (etwa 10 ccm) sich gegenseitig auf den Tropfen neutralisieren. Ist dies der Fall, so sind Säure und Lauge „aufeinander eingestellt“.

Als Ausgangspunkt nehmen wir, nachdem der Weg vom Silber aus, der freilich der sicherste ist, zu grosse Umständlichkeiten bereitet, der Einfachheit halber Oxalsäure, die p. a. (= pro analysi) bereitet, wenn die Krystalle verwittert sind, frisch umkrystallisiert, zwischen Filtrierpapier und in der Wärme, schliesslich im Exsikkator vollkommen getrocknet sein muss. Davon werden auf der chemischen Wage in einem tarierten Uhrglase 6,3 g abgewogen und in genau 100 ccm destillierten Wassers gelöst.

Normalkalilauge**): Ungefähr 60 g Kaliumhydroxyd werden in 200 ccm Wasser in einem Kolben gelöst, mit ca. 2 g frisch ausgeglühtem Magnesiumoxyd ver-

---

*) Wie unzuverlässig mitunter gewöhnliche Handelspräparate sind, dafür kann ich u. a. folgendes Beispiel anführen. Scheinbar ganz trockne Stifte von Natriumhydrat löste ich zu 12 % (= 3fach normal) in Wasser. Titrierung und Bestimmung des spezifischen Gewichts ergaben übereinstimmend, dass ich nur eine 6 %ige Lösung vor mir hatte.

**) Nach Hilger, Massanalyse; pharm. Institut in Erlangen.

setzt, ½ Stunde gekocht und in einem hohen Cylinder gut verschlossen bis zum Klären stehen gelassen. Mittels eines Glashebers wird die klare Flüssigkeit in einen Litercylinder übergeführt und auf etwa 500 ccm mit luftfreiem Wasser verdünnt.

Die so erhaltne Lauge wird gegen Normaloxalsäure eingestellt. Die Titrierung muss stets mit heissen Lösungen geschehen. Indikator: Lakmus oder Phenolphthaleïn.

Beispiel: Angenommen 10 ccm der obigen Kalilauge mit ungefähr der dreifachen Menge Wasser verdünnt, zum Kochen erhitzt und mit wenigen Tropfen Phenolphthaleïnlösung versetzt, verbrauchen nach wiederholten Versuchen 12,5 ccm Normaloxalsäure bis eben die rote Farbe verschwindet, so müssen je 10 ccm dieser Kalilauge auf 12,5 ccm verdünnt werden. Beträgt die vorhandne Menge Kalilauge beispielsweise 490 ccm, so erfährt man die noch zuzusetzende Wassermenge nach folgender Gleichung:

10 : 12,5 = 490 (vorhandne Menge Kalilauge) : x. x = 612,5.

Es ist zweckmässig, bei dem Einstellen von Normallösungen stets etwa 5—10 ccm Wasser weniger, als der Berechnung entspricht, zuzusetzen und dann nach wiederholter Prüfung die noch fehlende Wassermenge nach der oben ausgeführten Berechnung vorsichtig mit der Pipette zuzumischen.

Normalsalzsäure: Man bestimmt das spezifische Gewicht*) einer zur Verfügung stehenden chemisch reinen Salzsäure und berechnet daraus den Gehalt an HCl.

Angenommen die Salzsäure zeige das spezifische Gewicht 1,195, entsprechend einem Gehalte an HCl von 39 %, so wägt man 94 g (berechnet mittels der Gleichung 39 : 100 = 36,5 [Molekulargewicht von HCl] : x als x = 93,6) oder misst 79 ccm ab (berechnet mit Hilfe der Gleichung 1,195 : 1 = 91,25 : x als x = 78,3 ccm) und verdünnt zu 1000 ccm Flüssigkeit.

Man erhält so die Salzsäure etwas zu stark und bringt sie nach wiederholter Prüfung mit Normalkalilauge durch vorsichtigen Zusatz der berechneten Menge Wasser auf den richtigen Gehalt. Indikator: Phenolphthaleïn.

Titerstellung der Normalsalzsäure mit chemisch reinem Calciumkarbonat (Isländischem Doppelspat).

0,5—1 g $CaCO_3$ werden in einem Kolben mit überschüssiger Normalsalzsäure in der Wärme gelöst, nach dem Verdünnen mit der dreifachen Menge Wasser durch Kochen die Kohlensäure ausgetrieben und hierauf die überschüssig zugesetzte Salzsäure mit Normalkali zurücktitriert.

Angenommen 1 g $CaCO_3$, mit 25 ccm Normal-HCl gekocht, verbrauchen 5 ccm Normal-KOH zum Zurücktitrieren, so wurden 20 ccm Normalsäure von 1 g $CaCO_3$ gebunden und ist dann die Salzsäure wirklich normal, da berechnet 1 ccm Normal-HCl = 0,05 g $CaCO_3$ ist.

In ähnlicher Weise stellt man sich unter Zugrundelegung der Molekulargewichte (s. o.) die sonst nötigen Normallösungen her, z. B. Normalsoda-, Normalnatriumhydratlösung. Letztere lässt sich weniger leicht unzersetzt aufbewahren wie die gleichnamige Kaliumlösung, da sie das Glas rascher angreift. Jedoch scheinen Natriumverbindungen den Bakterien besser zuzusagen, wie solche mit Kalium.

Als Indikatoren zum Anzeigen des Umschlages der sauren oder neutralen Reaktion in die alkalische oder umgekehrt verwenden wir Lakmus, Phenolphthaleïn, Rosolsäure, Methylorange.

Lakmus. Einen sehr empfindlichen Lakmusfarbstoff erhält man nach Hilger (a. a. O.) folgendermassen:

Der käufliche Lakmus wird fein zerrieben, mit heissem Wasser zu einem dünnen Brei angerührt, zum Absetzen hingestellt und dieser erste Auszug weggegossen. Der Rückstand wird mit heissem Wasser erschöpft, die vereinigten Aus-

*) Bei Verwendung der Mohr-Westphalschen Wage schütze man den Haken, an dem die Thermometerspindel mit dem Platindraht aufgehängt ist, durch leichtes Einfetten gegen die oxydierende Wirkung der Säuredämpfe.

züge auf dem Wasserbade zur Extraktkonsistenz eingedampft, mit Eisessig deutlich sauer gemacht, die überschüssige Essigsäure möglichst verjagt und der Rückstand mit absolutem Alkohol so lange extrahiert, als noch etwas in Lösung geht. Der pulverige Rückstand wird, in Wasser gelöst, als Indikator verwendet.

Eine andre Vorschrift zur Bereitung einer Lakmustinktur nach Fr. Mohr (C. 12. 622) ist:

Der Lakmus wird mit heissem, destilliertem Wasser erschöpft, die filtrierte Lösung verdampft, mit Essigsäure übersättigt (wobei sich Kohlensäure entwickelt), sodann weiter bis zur Konsistenz eines dicken Extraktes eingedampft. Man bringt die Masse in eine Flasche und giesst eine grössere Menge 90%igen Weingeistes hinzu. Der blaue Farbstoff wird gefällt, ein roter Farbstoff und essigsaures Kalium lösen sich. Man filtriert, wäscht mit Weingeist aus, löst den zurückbleibenden Farbstoff in warmem Wasser und filtriert. Die Lakmuslösung muss in offnen, bloss mit Wattepfropf bedeckten Gefässen aufbewahrt werden, da sie sich in geschlossnen bald entfärbt.

Statt der umständlich zu bereitenden Lakmustinktur empfiehlt es sich, die 0,25%ige Lösung von Lakmoid, eines von Merck zu beziehenden Präparates, zu nehmen.

Lakmuspapier erhält man durch Tränken von sog. Post- oder Filtrierpapier mit der Tinktur. Filtrierpapier ist vorzuziehen. Wer eine empfindliche Tinktur hat, kann die Bereitung selbst besorgen, am bequemsten mit Lakmoidlösung. Ausserdem ist man auf das Lakmuspapier des Handels angewiesen, das ausserordentlich verschieden ist. Als recht empfindlich habe ich die in Buchform gebundnen Streifen aus der Fabrik von Dietrich (Helfenberg) gefunden. Vor der Reaktionsprüfung legt man die Streifen am besten auf eine Glasplatte und befeuchtet sie mit neutralem destilliertem Wasser.

Phenolphthaleïn: Lösung von 1 g in 100 ccm Alkohol.

Rosolsäure: Lösung von 1 g in 100 ccm verdünntem Alkohol. Zur Titrierung von Nährsubstraten (Behring): in einem Reagensglase frisch und heiss bereitete, konzentrierte wässrige Lösung.

Methylorange: Lösung von 0,1 g in 100 ccm Wasser.

Ein **Protokollbuch** anzulegen, darf nicht versäumt werden. Sämtliche Nährlösungen einschliesslich des Fleischwassers werden darin nach laufenden Nummern und Tag der Herstellung vorgetragen, namentlich die Art und der Grad der Neutralisierung und Alkalisierung, sowie besondere Vorkommnisse bei der Bereitung aufgezeichnet.

Herstellung der gebräuchlichsten Nährmittel.

Fleischwasser:

Gebrauchsgegenstände: Fleisch, Wiegemesser oder Schabeisen oder Fleischhackmaschine, grössere Wage und Gewichte, Messcylinder, Herdfeuer oder Petroleumkocher oder Bunsenbrenner mit Dreifuss, Asbestplatte, Drahtnetz, Emailtopf mit Deckel, Kochlöffel, Stativ mit Ringen und Klemmen, grosser Trichter, Faltenfilter, Filterschutz, destilliertes Wasser, Glaskolben, nicht entfettete Watte, Dampfcylinder, Apparate und Chemikalien zur Titrierung, Lakmuspapier, Rührstäbe.

Vorschrift:

1. Zerkleinerung des von Knochen, Sehnen und möglichst von Fett befreiten Fleisches.

2. Abwägen der zerkleinerten Masse.
3. Uebergiessen mit der doppelten Menge + 300 ccm Wassers.
4. Kochen über freiem Feuer in einem bedeckten emaillierten Blechtopf auf Asbestplatte unter öfterm Umrühren, je nach der Menge $^1/_2$—1 Stunde lang.
5. Bedeckt stehen lassen bis zur vollständigen Abkühlung und Abscheidung des Fettes.
6. Filtrieren durch (mit destilliertem Wasser) angefeuchtetes Faltenfilter in einen Glaskolben; die ersten filtrierten Mengen werden zurückgegossen.
7. Feststellung der Gesamtmenge des erhaltnen Fleischwassers durch Messung im Messcylinder oder Wägung; sie muss das doppelte Gewicht des verwendeten Fleisches betragen; etwas zuviel schadet nicht, ein Weniger muss durch destilliertes Wasser ergänzt werden.
8. Umfüllen in einen frischen Kolben geeigneter Grösse. Verschluss mit Stopfen aus nicht entfetteter Watte.
9. Sterilisierung im Dampfapparat 1—3 Stunden (je nach der Menge).

Erläuterungen:

Zu 1. Die Fleischsorte ist gleichgültig; Kalb- und Rindfleisch wird am häufigsten genommen; Pferdefleisch gibt eine leicht opaleszierende Brühe; es kann auch das Fleisch von Kaninchen, Meerschweinchen, Hühnern u. s. w. verwendet werden; kleinere Knochen werden mit eingehackt *).

Das Fleisch soll frisch sein. War es gefroren, oder haben in der Sommerwärme schon Fäulniserscheinungen sich bemerkbar gemacht (alkalische Reaktion!), so bilden sich meist schwer zu beseitigende Trübungen; faulendes Fleisch ist wegen der darin vorhandnen bakteriellen Stoffwechselprodukte überhaupt zu verwerfen. Von welchem Teile des Tieres das Material stammt, ist ebenfalls belanglos. In Städten mit Freibankeinrichtung ist billigerer Bezug ermöglicht. Fleisch von finnigen, trichinösen, tuberkulösen Tieren ist für unsre Zwecke ebenso dienlich, wie völlig bankmässiges. Dass die Fleischhackmaschine, wie überhaupt alle Gebrauchsgegenstände stets im besten Zustand und tadellos rein sein, dass alle Handhabungen mit der grössten Sauberkeit und Genauigkeit vollzogen werden müssen, ist unabweisliche Notwendigkeit. Jeder bei der Arbeit gebrauchte Gegenstand muss sogleich danach blank gereinigt und getrocknet wieder an seinen ständigen Platz kommen!

Zu 3 und 4. Fleischwasser ist ein Dekokt oder ein Infuso-Dekokt von 1 Teil Fleisch auf 2 Teile Wassers. Der Mehrzusatz von Wasser geschieht, weil während des Kochens eine beträchtliche Menge verdampft, die zur Vermeidung des Dunklerwerdens schon vorher beigegeben werden muss.

Das in der obigen Vorschrift angegebene Verfahren genügt, um die löslichen Stoffe des Fleisches ins Wasser zu bringen. Wer noch

*) In Gebäranstalten lassen sich nach Krönigs Rat die Nachgeburten zur Herstellung von Fleischwasser vorteilhaft verwenden (Cr. 14. 676).

mehr zu erhalten meint, verfahre der frühern Gepflogenheit gemäss, der zufolge das Gehäck mit der doppelten Menge Wassers übergossen über Nacht (12—24 Stunden) an einem kühlen Orte stehen bleibt. Andern Tags wird abgegossen und der Saft aus dem dazu in ein Tuch eingeschlagnen Fleisch mittels Presse tüchtig ausgedrückt, dann gekocht und weiter behandelt, wie oben. Dabei ist nur die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass trotz Eisschrankes, namentlich im Sommer, Fäulnisvorgänge einsetzen können; auch ist die Verzögerung nicht angenehm.

Zu 5—8. Alle Filter müssen vorm Filtrieren mit destilliertem Wasser angefeuchtet werden.

Grössere Mengen Flüssigkeiten zerreissen gerne das Filter. Das wird durch einen mehrfach durchlochten Einsatz, der die Gestalt eines kleinen Trichters hat, einen sog. Filterschutz (Fig. 45) verhütet.

Wiederholtes Zurückgiessen beseitigt oft die beim ersten Durchlaufen noch mitgehende Trübung. Trotzdem kann es vorkommen, dass beim nachherigen Sterilisieren oder bei dem folgenden Erkalten neuerdings eine dichte Trübung erscheint; sie fällt bei mehrtägigem Stehen als feiner Niederschlag, der gelegentlich abfiltriert wird; danach muss, wie nach jedem Lüften des Wattestopfens die ganze Menge regelrecht wieder im Dampf sterilisiert werden.

Es ist rätlich, dass das Fleischwasser vor seiner eigentlichen Verwendung, der Bereitung von Nährmitteln, von jenen trübenden Salzen befreit ist. Erscheint wiederholtes Filtrieren und Sterilisieren zu langwierig, so hilft, wo er vorhanden, ein Autoklav, worin das Fleischwasser etwa $^1/_2$ Stunde unter dem Drucke von $^1/_2$ Atmosphäre gehalten wird; nur dunkelt die Brühe dabei und nähert sich in ihrer Färbung den Fleischextraktlösungen, und zwar mit längerer Dauer oder höherm Druck um so mehr.

Das Fleischwasser reagiert schwach sauer. Es verlohnt sich, den Säuregrad durch Titrierung festzustellen. Das ist nicht ganz leicht wegen der Unsicherheit der Indikatoren. Am geeignetsten ist immer noch die Tüpfelmethode auf Lakmuspapier. Man misst 10 ccm in ein Kölbchen ab, erwärmt und tröpfelt so lange aus einer Bürette (nach Ablesung des Flüssigkeitsstandes) $^1/_{10}$ Normallauge zu, bis empfindliches blaues Lakmuspapier eine leichte Verstärkung seines Farbentones zeigt (rotes ist meist unzuverlässig und Lakmus- oder Lakmoidtinktur überhaupt ungeeignet; selbst in der sauern Bouillon bleibt sie blau, wenngleich die Kontrolle mit destilliertem Wasser die neutralviolette Färbung zeigt, die bei der geringsten Spur Säure in Rot umschlägt). Dann liest man den Stand der Flüssigkeit abermals ab. Jetzt verdünnen wir die 10 ccm Fleischbrühe mit neutralem destilliertem Wasser, damit die Gelbfärbung weniger stört, setzen einige Tröpfchen Phenolphthaleïn zu, erhitzen und titrieren weiter, solange bis eine rötliche Färbung sich bemerkbar macht, die auch beim Erhitzen nicht mehr verschwindet! Dann lesen wir endgültig ab und notieren die Ziffer zu den beiden übrigen; diese Phenolphthaleïnprobe soll nochmal allein für sich durchgeführt werden, teils zur Kontrolle, teils weil bei der Prüfung auf Lakmuspapier einige Tröpfchen zu Verlust kamen. Wir erhalten schliesslich zwei Werte, einen niedern nach der Tüpfelmethode, einen höhern durch die Phenolphthaleïnprobe. Dieses Ver-

halten der Fleischbrühe zu den Indikatoren ist auffallend. Nach Petri und Maassen (KA. 8. 371) lässt es sich durch die Gegenwart von Phosphaten erklären, die als primäre (saure) und als sekundäre (schwach alkalische) Salze überhaupt noch keine Einwirkung auf Phenolphthaleïn haben. Erst die tertiären Phosphate verhalten sich wie freies Alkali und röten das Derivat des Phthalids. Für die meisten Bakterien liegt das Optimum der Alkaleszenz, unsern bisherigen mehr empirisch gewonnenen Erfahrungen zufolge, zwischen dem mit der Tüpfelung auf Lakmuspapier und jenem mit Hilfe von Phenolphthaleïn gewonnenen Werte. Doch ist wohl zu beachten, dass bei der Bereitung der Nährboden aus dem Fleischwasser durch gewisse Zusätze Verschiebungen bedingt werden; so durch das alkalisch reagierende Pepton und besonders durch die Gelatine mit ihrer nicht unbeträchtlich sauern Eigenschaft. Die Titrierung der Fleischbrühe allein führt also zu keinem für sich direkt brauchbaren Ergebnis.

Nährbouillon

(auch schlechthin Bouillon genannt.)

Gebrauchsgegenstände: Fleischwasser, Messcylinder, bedeckter Topf von Email, Pepton, Kochsalz, Wage und Gewichte, Rührstäbe, Kochvorrichtung, Asbestplatte, Normallaugen, Büretten. Lakmuspapier, Trichter mit Faltenfilter auf Stativ, einige Glaskolben, Reagensröhrchen (oder kleine Medizinflaschen zu 30 ccm Inhalt) mit Stopfen von entfetteter Watte, Einfüllvorrichtung (Fig. 50), Dampfkochtopf mit Einsätzen, Hühnereier.

Vorschrift:

1. Fleischwasser 1000 ccm*) in den Emailtopf.
2. Zugabe von trocknem Pepton (Witte) 10 g.
   Kochsalz 5 g.
3. Erhitzen im Dampfapparat (oder über freier Flamme mit Drahtnetz- oder Asbestunterlage unter öfterm Umrühren) bis zur Erreichung der Siedehitze.
4. Neutralisieren mit Normalnatronlauge oder -Kalilauge.
5. Alkalisieren mit Sodalösung (von Normalsodalösung 10 ccm).
6. 2 Stunden in den Dampfapparat (oder 1/4 Stunde lang kochen über freier Flamme unter den bei Nr. 3 angegebnen Vorsichtsmassregeln).
7. Filtrieren durch angefeuchtetes Filter. Zurückgiessen der ersten Portionen.
8. Abmessen der Menge; allenfalls Ergänzung des verdampften Wassers durch destilliertes.
9. Prüfung auf etwa vorhandene Trübung.
10. Wenn völlig klar, Abfüllen in Reagensgläser oder Medizinfläschchen.
11. Sterilisieren im Dampfapparat 1 Stunde lang.

---

*) Bei dieser und den folgenden Vorschriften ist die Menge von 1 l angenommen. Für die bei kleinerm Betrieb meist geringern Mengen (300—500 ccm) berechnet sich daraus das entsprechende Verhältnis der Masse der Zusatzstoffe leicht. Auch die Dauer der Erhitzung im Dampfapparat (Nr. 6) kann dann auf 1 Stunde verringert werden.

Erläuterungen:

Zu 1. Die nicht zur Bouillon verwendete, übrig bleibende Fleischbrühe wird unverzüglich im Dampf sterilisiert.

Zu 2. Der Zusatz von ½ % Kochsalz dient sowohl für die Ernährung der Bakterien, wie zur leichtern Lösung des Peptons. Er kann auch 1 % betragen.

Zu 4 und 5. Die hieher gehörige Fig. 49 s. S. 75 Nr. 5—7 bei Nährgelatine. Wie dort beschrieben wird, erfolgt zunächst der Zusatz von Normal-Natron-(Kali-)Lauge, bis blaues und rotes Lakmuspapier eben beginnt sich zu bläuen. Nachdem so die Neutralisierung — am besten in möglichst heisser Lösung — geschehen, wird alkalisiert, und zwar durch Zusatz von Normal-Sodalösung 1 ccm auf je 100 ccm Bouillon. Man kann auch verfahren, wie bei Gelatine Nr. 4—7 angegeben.

Zu 8. Trübungen der Bouillon sind häufig. Lassen sie sich nicht durch wiederholtes Filtrieren beseitigen, so hilft nur nochmaliges Einstellen in den Dampfapparat für längere Zeit (im Autoklaven genügt ¼—½ Stunde bei ½ Atmosphäre) oder das Klären mit Eiweiss (s. bei Gelatine S. 76). Wurde selbst die leiseste Trübung übersehen, so wird man nach dem Abfüllen und Sterilisieren eine starke Trübung bekommen. In Bouillon ist sie nicht so sehr hinderlich wie bei Gelatine, weil sich hier die trübenden Stoffe absetzen können, was bei der Gelatine, die bald erstarrt, nicht möglich ist.

Zu 9 und 10. Bouillon fülle ich statt in Reagensgläser gerne in 30 ccm-Medizinfläschchen in Mengen von 7—10 ccm ab. Diese lassen sich übersichtlicher hinstellen. Sie brauchen nur gut gereinigt, vorher nicht sterilisiert zu sein. Die Füllung geschieht genauer mit der Bürette. Umständlichkeiten für die Reinigung sind nicht zu besorgen, wie bei der anklebenden Gelatine. Benützt man zum Sterilisieren den Dampftopf amerikanischen Systems, so hebe man nach Beendigung die überfallende Kupferglocke sofort ab, sonst verringert sich der Inhalt der Gläser, da leicht ein Vakuum entsteht. In noch grösserm Masse ist diese Vorsicht beim Autoklaven geboten (S. 58).

Die Aufbewahrung der fertigen Nährlösung geschehe vor Licht und Feuchtigkeit geschützt! In feuchter Luft siedeln sich leicht Schimmelpilze auf den Wattepfröpfen an und wachsen dann durch sie in die Gläser hinein. Reagensgläser werden in ein Sammelgefäss (Zigarrenkistchen u. dgl.) aufrecht gestellt. Ein beigelegter Zettel enthält die laufende Nummer und das Datum (nach dem Protokollbuch) verzeichnet*).

Nährgelatine.

Gebrauchsgegenstände: Dieselben wie bei Nährbouillon. Dazu noch Wasserbad, Gelatinetafeln. Heisswasser- oder Dampftrichter. Medizinfläschchen kommen nicht in Betracht, nur Reagensröhrchen mit Wattestopfen.

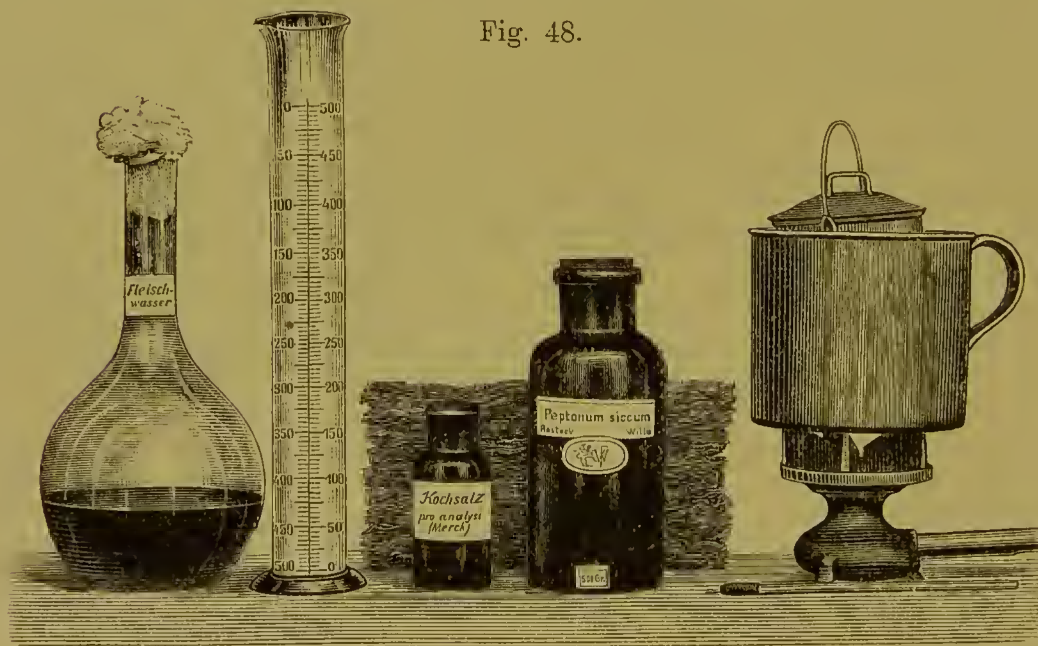
Vorschrift:

1. Fleischwasser 1000 ccm in den Emailtopf.

*) Ueber das Vorrätighalten sterilisierter Nährbouillon zur stetigen keimfreien Entnahme s. S. 85.

2. Zusatz von Pepton (Witte) 10 g,
   Kochsalz 5 „
   Gelatinetafeln 100 „
3. Einsetzen des Topfes in einen grössern Topf mit Wasser. Erwärmen im allmählich heiss werdenden Wasserbade, bis sich die zugesetzten Stoffe unter zeitweiligem Umrühren gelöst haben.
4. Neutralisieren mit Normal-Natron-(Kali-)Lauge.
5. ½—1 Stunde in den Dampfapparat.
6. Prüfung auf neutrale Reaktion; wenn zurückgegangen, Wiederherstellung der neutralen Reaktion durch einige Tropfen Normal-Natron-(Kali-)Lauge in möglichst heisser Lösung.
7. Alkalisicren mit Sodalösung (von Normal-Sodalösung 10 ccm).
8. ½—1 Stunde in den Dampfapparat. Unterdessen Herrichtung des Heisswasser- oder Dampftrichters.
9. Filtrieren; Zurückgiessen der ersten Portionen.
10. Prüfung auf etwa vorhandne Trübung.
11. Wenn völlig klar, Abfüllung in Reagensgläser.
12. Sterilisieren im Dampfapparat ¼ Stunde lang, von der Erreichung der Siedehitze an gerechnet. Wiederholung dieser Sterilisierung an den folgenden beiden Tagen.

Fig. 48.



Erläuterungen:

Zu 1. Der Emailtopf (Suppentopf) soll vorher gewogen sein. Dann lässt sich, wenn aus irgend einem Grunde, z. B. durch Ueberkochen oder dgl., etwas verloren gehen sollte, die Menge des heissen Inhalts jederzeit durch Wägung und Abzug der Tara des Topfes vom Gesamtgewicht leicht und schnell erfahren.

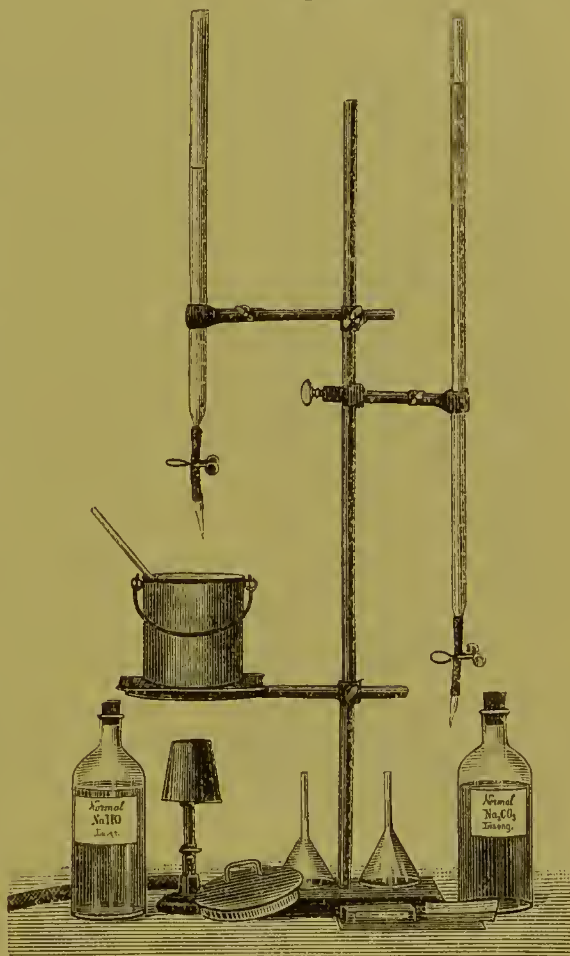
Zu 3. Der Topf wird kalt zugesetzt, damit die Quellung und Lösung der Gelatine allmählich vor sich gehen kann.

Zu 4. Da der Gelatinezusatz den Säuregehalt des Fleischwassers

nicht unbedeutend steigert, ist mehr Lauge bis zur Neutralisierung erforderlich, wie bei Nährbouillon. Die nötig gewesene Laugemenge trage man ins Protokollbuch ein, um mit der Zeit ein sichres Urteil zu bekommen. Die Neutralität ist erreicht, wenn blaues und rotes Lakmuspapier eben anfängt sich zu bläuen.

Zu 5.—7. Beim Erhitzen geht gewöhnlich die Reaktion etwas zurück, die Lösung wird wieder sauer. Darum schaltet man die Dampfwirkung ein. Da die Neutralisierung in möglichst heisser Lösung stattfinden soll, stellt man den Topf (auf einem Drahtnetz) über eine kleine Flamme — Vorsicht vor Ueberkochen! Nach etwa erforderlicher Zugabe kleiner Mengen der Normal-Natron- oder Kalilauge wird gut umgerührt und mit dem Rührstab auf feuchtes blaues oder rotes Lakmuspapier getupft, bis keine Farbenveränderung mehr sichtbar ist und der nächste Tropfen Lauge bereits eine leichte Bläuung bewirkt.

Fig. 49.



Dann wird mit Sodalösung der gewünschte Alkalescenzgrad hergestellt. Dieser bemisst sich, wenn er am geeignetsten sein soll, für die einzelnen Bakterienarten nicht ganz gleich. Doch scheint es am besten, d. h. am allgemeinsten passend zu sein, auf je 100 ccm Nährlösung 1 ccm Normal-Sodalösung zu geben (s. S. 80 und 81).

Diese ist den Seite 67 gegebnen Erklärungen zufolge bei Verwendung krystallisierter Soda ($Na_2CO_3 + 10 H_2O$) 14,3%ig. Vielfach ist in Laboratorien eine 10-%ige Sodalösung in Gebrauch. Von solcher muss man zur Erzielung des gleichen Alkalescenzgrades demnach 1,43 ccm nehmen; man darf hier rund 1,5 ccm auf 100 ccm Nährgelatine zugeben. Nur muss man die Verhältnisse jedesmal im Protokoll vermerken.

Warum neutralisieren wir mit Kalilauge und alkalisieren dann mit Sodalösung?

Ich folge einem Rate von Zettnow, der sich also begründet: Bei der Neutralisierung darf nicht Sodalösung genommen werden, weil die frei werdende Kohlensäure die Tüpfelreaktion auf Lakmus beeinträchtigen würde. Und bei der Alkalisierung der neutralen Lösung nehmen wir keine Natron- oder Kalilauge mehr, weil sie mit den stickstoffhaltigen Stoffen der Lösung unerwünschte oder unkontrollierbare Verbindungen (Ammoniak u. dgl.) eingehen könnte, was bei Soda nicht der Fall ist.

Zu 8. Zu lange dürfen Gelatinelösungen nicht der Hitze ausge-

setzt sein, sonst leidet ihre Erstarrungsfähigkeit. Bei Mengen von 500 ccm ist eine ½stündige Dampfwirkung (zweimal) genug.

Zu 9. Hinsichtlich der Vorbereitung und Ausführung des Filtrierungsvorganges verweise ich auf die Beschreibung des Heisswasser- und Dampftrichters (S. 62), dessen Deckelventil bei Gelatine offen bleiben kann, und wiederhole, dass der zur Aufnahme des Filtrates bestimmte Kolben auf Filtrierpapierunterlage ruhen muss. Man sehe sich immer mit zwei reinen Kolben vor, um während des Zurückgiessens sofort den andern unterschieben zu können. Sehr leicht gelangen dabei einige Tropfen nebenhin. Läge kein Filtrierpapier da, so könnte der Boden des Glaskolbens an der Tischplatte festgeleimt und beim spätern Wegnehmen abgesprengt werden.

Zu 10. Wie bei der Bouillon, so ist auch hier auf die allergeringfügigsten Trübungen sorgsam zu achten, die oft nur unter den günstigsten Licht- und Schattenbedingungen wahrnehmbar sind, am besten, wenn man den Inhalt des Kolbens von der Ferne und von verschiednen Stellen aus beobachtet. Eine in ein Reagensgläschen filtrierte Probe wird gegen dunkeln Hintergrund (Rockärmel) gehalten und zwar einmal gleich nach dem Filtrieren, dann nach energischem Aufkochen und endlich nach völligem Erstarrenlassen unter der Wasserleitung oder im Eiswasser (Kältemischungen s. sp.). Erst wenn die Nährgelatine alle diese Proben tadellos klar bestanden hat, kann man sie abfüllen. Unterlassung einer von ihnen kann sich rächen. Die beim oberflächlichen Hinsehen scheinbar klare Lösung wird zum Erstaunen und Aerger des Verfertigers nach erfolgter Abfüllung in Reagensgläser und nach dem erst- oder zweitmaligen Sterilisieren bis zur Undurchsichtigkeit trüb, entweder erst beim Erkalten (dann verschwindet die Trübung beim Erwärmen wieder) oder sie kommt schon trüb aus dem Dampfapparat.

Das beste Mittel zur Beseitigung einer Trübung der noch nicht abgefüllten Nährlösung ist bei der Empfindlichkeit der Gelatine gegen öfteres und längeres Erhitzen die Klärung mit Hühnereiweiss. Sie wird folgendermassen ausgeführt (nach N. K. Schultz, C. 10. 53):

Das Weisse von 1—2 Eiern wird gerührt, mit der 2—3fachen Menge kalten Wassers versetzt und zum Nährsubstrat hinzugegeben. Dessen Temperatur darf hierbei nicht höher als 40—50° sein, da bei 60° die Eiweissstoffe bereits gerinnen und wir dahin streben, vor Beginn der Gerinnung eine innige Vermischung zu erzielen. Nur unter dieser Bedingung kann das Eiweiss jede Trübung beseitigen. Hierauf muss die Mischung gut gerührt und 10—15 Minuten lang im Emailtopf (mit Deckel) auf offenem Feuer stark gekocht werden, damit sich harte Flocken bilden; geschieht das Kochen nicht lange und stark genug, so bleiben die Gerinnsel schleimig und verkleben das Filter.

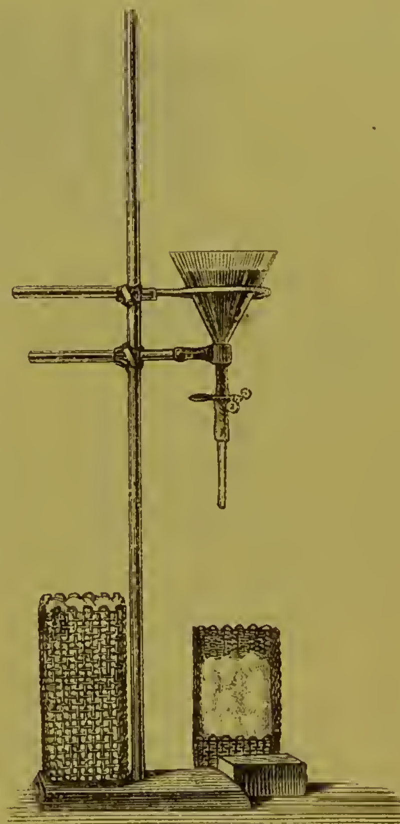
Zu 9. Beim Abfüllen ist das Augenmerk besonders darauf zu richten, dass nicht die geringste Spur an die Stelle des Reagensglases gelangt, wo der Wattepfropf anliegt; er klebt sonst unfehlbar an und beim spätern Herausdrehen (alle Wattestopfen werden mit drehender Bewegung abgenommen) bleiben lange Wattefasern hängen, die eine einwandsfreie Impfung und die Exaktheit der Untersuchung in lästiger Weise beeinträchtigen. Sie können nicht einmal abgebrannt, sondern müssen mit heissem Platindraht abgesengt und mit geglühter Pinzette

mechanisch entfernt werden. Man führe deshalb die Ausflussspitze des Abfülltrichters unter vorsichtiger Vermeidung jeder Berührung der Wand des Reagensglases möglichst tief ein und ziehe das Röhrchen nach der Füllung ebenso vorsichtig unten weg.

Die Menge des einzugebenden Nährmittels betrage 7—8 ccm, nur zu gewissen quantitativen Untersuchungen 10 ccm. Erstere Menge reicht zur Beschickung einer Platte oder Kulturschale (S. 103) hin. Andernfalls, wo es auf Ersparnis ankommt, können auch kleinere Mengen genügend sein; dann nimmt man, um die gleich hohe Schicht zu erzielen, Reagensröhrchen von nur etwa 10 mm lichter Weite (S. 20).

Zu 10. Die gefüllten Röhrchen werden in einen zum Dampfsterilisator passenden Einsatz gestellt; dabei legt man den Korb schräg auf eine Unterlage, damit die Röhrchen schräg liegen und nicht umfallen können, denn niemals darf Gelatine an den Wattepfropf kommen! (Fig. 50).

Fig. 50.



Die Keimfreimachung geschieht an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 1/4 Stunde lang von der Erreichung der Siedehitze an gerechnet. Die jedesmalige Sterilisierung wird auf einem beigelegten Zettel vermerkt. Nach dem Herausnehmen sorge man für baldige Abkühlung, damit die Erstarrungsfähigkeit nicht zu sehr beeinträchtigt wird.

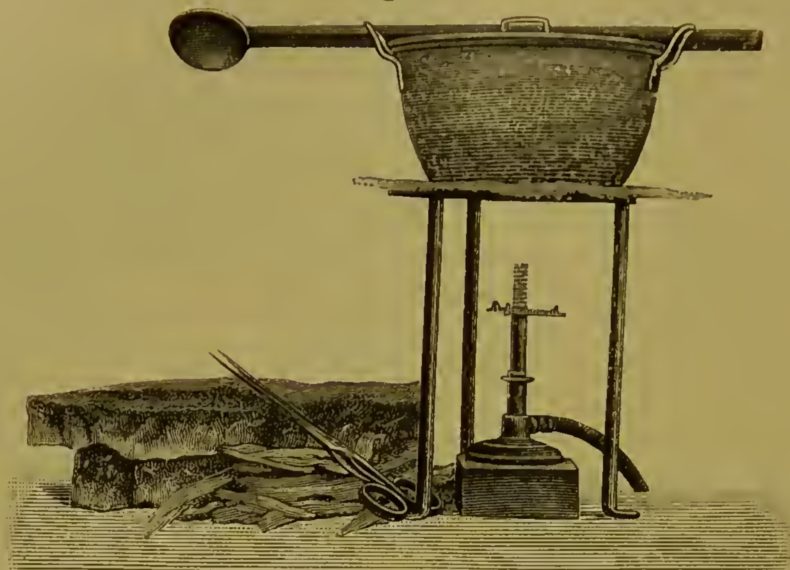
Heydenreich stellt das Einsatzgefäss mit den Gelatineröhrchen in einen eignen Erstarrungskasten: oben offen, 40 × 20 × 20 cm gross, besitzt er an einer Ecke der Breitseite mehrere übereinanderliegende Oeffnungen von 1 cm Durchmesser in 3, 5, 7 u. s. w. cm Höhe. Von der Leitung fliesst Wasser ein und durch die Oeffnungen ab. Die Tiefe des Wassers, worin die Gläser stehen, wird durch Verstopfung der entsprechenden Anzahl von Oeffnungen geregelt (Zeitschrift f. wiss. Mikr. 9. 306).

Nach dem letztmaligen Sterilisieren sorge man dafür, dass die Röhrchen in die richtige Lage kommen, so dass sie entweder vollkommen aufrecht stehen und die Oberfläche eine gerade, nicht im mindesten geneigte Ebene bildet, oder dass sie schief gelegt werden, so dass der Inhalt „schräg erstarren" kann und so eine grössere Kulturfläche darbietet. Im allgemeinen zieht man bei Nährgelatine die aufrechte, „gerade Erstarrung" vor, während man die nicht für Plattenaussaaten bestimmten Röhrchen — wie das immer z. B. bei Blutserum der Fall ist — schräg erstarren lässt. Um die richtige geneigte Stellung zu bekommen, gibt es eigene Vorrichtungen aus Draht und Blech, deren eine S. 92 abgebildet ist.

Die Aufbewahrung und nähere Bezeichnung nach dem Protokoll geschieht wie bei der Bouillon.

Nährnagar.

Fig. 51.



Gebrauchsgegenstände: Agar-Agar (zwei Agarsorten, in Säulen- und in Federkielform, sind in der Fig. 51 links hingelegt). Sonst dieselben wie bei Nährgelatine und Bouillon.

Vorschrift:

1. Fleischwasser 1000 g in einen Emailkochtopf.
2. Destilliertes Wasser 200 g.
3. Agar, fein zerschnitten, 12,5 g.
4. Kochen über freier Flamme auf Asbestplatte 1/2—3/4 Stunden lang.
5. Pepton 10 g + Kochsalz 5 g (+ Gelatine 20 g). Nach erfolgter Lösung:
6. Neutralisieren mit Natron-(Kali-)Lauge.
7. Kochen und nochmalige Prüfung auf neutrale Reaktion.
8. Alkalisieren mit 10 ccm Normal-Sodalösung.
9. 1/4 Stunde kochen oder 2 bis 3 Stunden in den Dampfapparat
10. Filtrieren im Heisswassertrichter } 1mal aufkochen u. Einfüllung in den angeheizten Dampftrichter; Festschrauben des Deckels.
11. Abfüllung des Filtrates in Reagensgläser.
12. Sterilisierung im Dampf, einmal 1 Stunde.

Erläuterungen:

Zu 1. Ersatz des Fleischwassers durch Fleischextraktlösung siehe S. 85.

Zu 2. Diese Menge Wasser dient als Ergänzung des beim Kochen entweichenden (s. Fleischwasser; Nr. 3).

Zu 6. Um das oft lästige Abgleiten der Agarmasse vom Glase der Kulturgefässe zu vermeiden, kann man Gelatine zusetzen. v. Esmarch empfahl Gummi arabicum. Nötig ist der Zusatz nicht, zumal wenn die Gallerte nicht zu weich gerät.

Wird keine Gelatine zugegeben, so liegen die Verhältnisse wie bei der Bouillon, da der Agar neutral ist.

Zu 8 und 9. Filtrieren im Heisswassertrichter ist eine starke Geduldprobe. Es kann einen ganzen Tag währen; dabei muss das Wasser ordentlich kochen und der Trichter mit einem Deckel, Teller oder einer saubern Platte von nicht zu dünnem Holze bedeckt sein. Trotz mehrmaligem Filtrieren ist die Gallerte oft nicht ganz klar zu bekommen. Der Dampftrichter verkürzt und vereinfacht den Vorgang wesentlich. Es wird entweder mit doppelter Lage Filtrierpapier (Filterschutz!) wie bei Gelatine filtriert oder mittels Infusorienerde, dann genügt eine einfache Lage Fliesspapier (S. 63). Selbst nach der Filtration in flüssigem Zustande völlig klare Agarlösung trübt sich beim Abkühlen mehr oder weniger.

Andre Verfahren zur Beschleunigung der Löslichkeit des Agar sind durch den Dampftrichter vollends hinfällig geworden. Von verschiednen Seiten wurde dazu die Anwendung von Säuren (Moselwein; Salz-, Essigsäure etc.) empfohlen; Säure schadet aber dem Agar; er verliert an Erstarrungsfähigkeit, die sich auch durch nachträgliche Alkalisierung nicht wiederherstellen lässt.

Die Klärung der gekochten Agarlösung durch freiwillige Absetzung im Dampfcylinder bei 50—60° während 12—24 Stunden unter Zuhilfenahme eines hohen, schmalen Glascylinders empfiehlt sich ebensowenig, wie die Filtration innerhalb des Autoklaven; es sind dazu ungebührlich hohe Apparate nötig. Die teuern und wenig dauerhaften Gummigebläse zum Durchtreiben der zähen Agarmasse sind überholt.

Zu 10. Beim Abfüllen gelten dieselben Regeln, wie für Gelatine. Genaue Abmessungen sind erschwert wegen der leichtern Erstarrung des Agars, Büretten mit engen Ausflussöffnungen gar nicht verwendbar.

Zu 11. Die Sterilisierung geschieht wie bei Bouillon; noch rascher kommt man im Digestor zum Ziel (10 Min. bei 1 Atm.), ohne der Erstarrungsfähigkeit Eintrag zu thun, doch wird die Lösung dabei dunkler. Danach lässt man in der Regel eine grössere Anzahl von Röhrchen auf schief gestellter Unterlage schräg erstarren (Vorrichtung dazu Fig. 54 S. 92).

Aufbewahrung und Bezeichnung wie früher erwähnt.

Zur Vervollständigung des Gesagten und zur Erleichterung für den Arbeitenden lasse ich noch eine genaue protokollarische Beschreibung folgen über den

Gang einer Nähragarbereitung
mit Zeitangabe.

Gewicht des Kochtopfes (Fig. 51) ohne Deckel 400 g. Uhr: 9^{0}
Fleischwasser 500 g.
Destilliertes Wasser 150 g*).
Deckel auflegen. Dreifuss mit Asbestplatte. Einbrenner darunter, Topf darüber stellen. Kochlöffel daneben. Flamme angezündet. 9^{4}
Säulenagar abwägen 6,25 g (= 1¼ %).
Agar zerzupfen ins Fleischwasser, mit Kochlöffel untertauchen, bis alle Stückchen vollständig benetzt sind. Deckel drauf. 9^{13}

---

*) Wird der Nähragar statt mit Fleischwasser mit Fleischextraktlösung bereitet (S. 85), so nimmt man von vorneherein 650 g Wasser, die beim folgenden Erhitzen auf 500 g eindampfen.

Zeitweiliges Umrühren mit dem Kochlöffel und Deckel sofort wieder aufsetzen.

Abwägen auf einem (durch ein gleich grosses andres Stück tarierten) Filtrierpapier von Uhr: 9^{18}

Pepton sicc. Witte 5 g
Kochsalz (chemisch rein) 2,5 g

und vorläufig beiseite legen.

Herrichtung von zwei Büretten (zu je 50 ccm Inhalt) am Stativ (Fig. 49) nebst zwei Trichterchen. Beide werden gefüllt, die links stehende mit Normal-Natronlauge, die rechts stehende mit Normal-Sodalösung. Dann lässt man den Inhalt beider in das zugehörige Glas zurückfliessen, bis auf einen kleinen Rest, so dass die Büretten mit der betreffenden Lösung ausgespült und die Ausflussröhrchen von Luftblasen befreit sind. Hierauf wird die linksseitige Bürette abermals mit Normal-Natronlauge gefüllt bis zum obersten Teilstrich 0, die rechtsseitige mit Normal-Sodalösung, aber nur bis zum Teilstrich 45. Vorsicht, dass keine Verwechslung vorkommt! 9^{25}

Bereitlegen einer Glasplatte und mehrerer Streifen roten und blauen Lakmuspapiers.

Aufsetzen eines Topfes mit 1½ l Wasser über eine andre Flamme zum Kochen (bestimmt zur Füllung des Dampftrichters). 9^{30}

Anheizung des Dampfsterilisators zur Sterilisierung des etwa übrig gebliebnen Fleischwassers; bleibt nach der Erreichung der Siedehitze noch ½—1 Stunde je nach der vorhandnen Menge im Dampf. 9^{33}

Herrichtung des Dampftrichters:

Zuerst Einlegung des Filterschutzes von Nickel, dann Ausschneiden eines einfachen Papierfilters von 14—15 cm Halbmesser; glatt ausbreiten im Trichter (Fig. 46).

Abwägung von 0,25 g geglühten (vorrätig gehaltnen) Kieselgurs. Die gröbern Teilchen werden mit den Fingern zerrieben, das feine Pulver wird auf den Grund des Filters in den Trichter geschüttet, aber dort nicht festgedrückt. 9^{40}

Die Agarlösung fängt an zu kochen, der Agar hat sich gelöst. 9^{45}

Eingeben des vorhin abgewognen gemischten Peptons und Kochsalzes. Das Gemisch soll nicht auf einmal eingeschüttet werden, sonst klumpt sich das Pepton zusammen, sondern nach und nach unter sachtem Anklopfen ans Papier und unter fortwährendem Umrühren mit dem Kochlöffel. Damit die am Papier haftenden Pulverreste nicht verloren gehen, wird es noch in die Agarlösung getaucht und darin abgespült, dann weggeworfen.

Zum Neutralisieren wird jetzt das Stativ heran-

geschoben, bis sich die Bürette mit der Natronlauge über dem Topfe befindet. Nachsehen, ob die Lauge auf Teilstrich 0 steht, allenfalls korrigieren (oder auf einen beliebigen, zu notierenden Teilstrich einstellen).

Auftupfen des Kochlöffels (nach Umrühren der Lösung) auf einen Streifen blauen Lakmuspapiers: wird rot.

Erst 2 ccm der Natronlauge einfliessen lassen; umrühren, auftupfen auf blaues Lakmuspapier: wird noch rot.

Dann 10 Tropfen Natronlauge eingeben: wird noch rot, u. s. f. vorsichtig je 2—5 Tropfen einträufeln und prüfen auf blauem, sowie jetzt auch auf rotem Lakmuspapier, bis das blaue nicht mehr rötlich wird, das rote aber bereits einen Stich ins Blaue bekommt. Uhr: 9^{50}

Ich habe verbraucht genau 4 ccm Natronlauge (bei andern Fleischwasser kann sich diese Menge ändern). Das wird ins Protokollbuch notiert.

Deckel auf den Topf und abwarten, bis die Lösung wieder ins Kochen gerät.

Unterdessen bereite ich vollends den Dampftrichter und die Gefässe zum Einfiltrieren vor: Das um 9^{30} aufgesetzte Wasser ist jetzt zum Kochen gekommen und wird nun mittels Blech-(Email-)Trichter, dessen Ausfluss durch Gummischlauch und Glasröhrchen verlängert ist, zwischen äusserer Trichterwand und innerer Wand der Kupferblase eingefüllt, bis der Wasserspiegel etwa noch 3 Finger breit unter dem Rande des Trichters steht.

Dann setzt man einen Einbrenner unter den seitlichen Fortsatz der Kupferblase und bringt damit das Wasser wieder zum Sieden.

Hierauf stellt man zum Filtrieren bereit:

Einen nicht zu hohen Topf von etwa 1—1 ½ l Inhalt, dessen Boden mit Filtrierpapier belegt wird.

Zwei Bechergläschen von etwa 100 ccm Inhalt, wohl gereinigt, deren eines in die Mitte des Topfes hineingestellt wird.

Einen Glaskolben von ¾ l Inhalt, wohl gereinigt, zum Schutze seines Bodens auf Filtrierpapier gestellt.

Die Agarlösung ist wieder ins Kochen gekommen. 10^{5}

Umrühren mit dem Kochlöffel; Prüfung der Reaktion auf Lakmuspapier: sie ist noch neutral. (Wäre sie ins Saure zurückgegangen, so müssten jetzt noch einige Tropfen Normallauge bis zur Wiederherstellung der neutralen Reaktion zugesetzt werden.)

Eingeben von 5 ccm (= 1 %) Normal-Sodalösung aus der andern Bürette (vom Teilstrich 45 bis 50 ausfliessen lassen).

Wägen des Topfes mit Inhalt. Es müssen auf die in der Nähe stehende Wage 923 g an Gewichten gelegt werden, denn es wog:

Der Topf ohne Deckel mit 500 g Fleischwasser	900,00 g
der Agar	6,25 „
das Pepton und Kochsalz . . .	7,50 „
die Normal-Natronlauge . . .	4,00 „
die Normal-Sodalösung	5,00 „
Summe	922,75 g

Ich finde nun den Topf noch zu schwer, er wiegt mit Inhalt etwa 970 g. Es müssen also noch 47 g verdampfen.

Ich stelle deshalb den Topf mit Deckel auf die Asbestplatte, setze jetzt einen Dreibrenner unter und gebe nur Obacht, dass die etwa aufschäumende Flüssigkeit nicht überkocht.

Unterdessen erhitze ich in einem Reagensglase etwa 10 ccm destillierten Wassers und giesse es kochend heiss, tropfenweise aufs Filtrierpapier im Dampftrichter, um es anzufeuchten.

Ist dieses Wasser durchgetropft, so setze ich ein leeres Bechergläschen unter den Trichter.

Dann wende ich mich wieder zur Agarlösung, nehme den Deckel vom Topf, unten die Asbestplatte weg, und lasse nun unter fortwährendem Umrühren mit dem Kochlöffel über freier Flamme solange kräftig kochen, bis ich glaube, dass das überschüssige Wasser verdampft ist, was ich jederzeit rasch kontrollieren kann, wenn ich den Topf auf die nebenstehende Wage setze, die mit 923 g Gewichten noch immer belastet ist.

Ist dieses Gewicht erreicht (ein etwaiges Zuwenig wird mit heissem destilliertem Wasser ergänzt), so überzeuge ich mich erst nochmal, ob der Dampftrichter in Ordnung und das Bechergläschen richtig in der Mitte darunter (auf Fliesspapier) steht.

Dann setze ich den Topf zum letztenmal über die Flamme, bis die Agarlösung kräftig aufwallt und giesse sie alsbald kochend aufs Kieselgurfilter, acht gebend, dass die eingegossene Flüssigkeit nicht die Spitze, sondern die Wand des Filters treffe. Uhr: 10^{20}

Nun kommt zuerst die Blechhaube (Fig. 46) auf den Trichter, dann wird der Deckel der Kupferblase mit geschlossenem Ventil (Fig. 45) auf den Gummi- (oder Asbest)kranz gesetzt, der Bügel aufgestellt und die Schraube fest angezogen, bis der Deckel ganz dicht schliesst.

Die erste Portion durchfiltrierenden Nähragars ist vielleicht etwas zu trüb; ich giesse sie nicht mehr zurück, sondern gebe sie gleich in Reagensgläschen.

Die folgenden fange ich nicht zusammen in einem Kolben auf, wie bei Nährgelatine üblich, weil es vorkommen kann, dass infolge zu grosser Dampfspannung das Filter durchreisst, ehe man die Flamme rechtzeitig niedergeschraubt hat (S. 63). Es würde die ganze vorher filtrierte Menge mit der unfiltrierten Masse wieder zusammen kommen. Darum filtriere ich in ein Bechergläschen, das, wenn etwa 50 ccm aufgefangen sind, durch ein zweites ersetzt wird. Die einzelnen Filtrate giesse ich in den bereit stehenden Glaskolben zusammen.

Die Bechergläschen stelle ich auch nicht frei unter den Trichter, sondern auf den mit Filtrierpapier belegten Boden des Blechtopfes (s. o.). Platzt dann das Filter, so kann von der Agarlösung nichts verloren gehen.

Der Filtrierungsvorgang dauert etwa 3 Stunden.

Danach wird die im Kolben gesammelte Nähragarmenge auf etwa 1/2 Stunde in den Dampfapparat gestellt, verflüssigt und mittels eines Trichters in der S. 77 Fig. 50 angegebnen Weise in Reagensröhrchen abgefüllt.

Sonstige Zusätze zu den Nährmitteln.

Durch Zusatz von Zucker und namentlich von **Glyzerin** kann man die Nährboden, speziell die brutbeständigen (Bouillon und Agar), noch allgemeiner brauchbar machen. Doch scheinen die kohlenstoffreichen Verbindungen zwar das Wachstum gewisser Arten zu begünstigen und zu fördern, aber gleichzeitig eine Art schädlicher Ueberernährung zu bedingen, die die darauf gediehenen Bakterien weniger widerstandsfähig macht und ihre Virulenz herabsetzt.

Man gibt gewöhnlich 1 1/2 % Zucker oder 4—5 % Glyzerin, dieses nach dem Filtrieren und kurz vor dem Einfüllen in die Reagensröhrchen zu.

Glyzerin dient namentlich zur Züchtung der Tuberkelbazillen, die auf gewöhnlichem Nähragar nicht gelingt, jedoch auch vieler andrer Bakterien.

Zuckerhaltige Nährlösungen werden, wenn man Gärungserreger eingesät hat, sauer und schädigen dann die Mikroorganismen leichter. Zucker gehört zu den reduzierenden Substanzen und kann daher bei der Züchtung der Anaërobier förderlich sein. Man gibt gewöhnlich 1 1/2—2 % Traubenzucker zum Nährmittel.

Noch mehr eignen sich u. a. ameisensaures oder indigschwefelsaures Natron, von denen 0,5 % genügen, um die strengen Anaërobier im Impfstich (in etwas höher als gewöhnlich eingefülltem) Agar ohne weitere Umständlichkeiten zu üppiger Entwicklung zu bringen.

Verschiedne Chemikalien, Farbstoffe, selbst entwicklungshemmende Mittel kommen mitunter in die Nährmittel, meist, wenn es sich um

Unterscheidung gewisser Bakterienarten von andern handelt. Wir werden darauf bei der Diagnostik zurückkommen.

Eine wichtige Zuthat für gewisse Zwecke ist das Aufstreichen von menschlichem Blut oder von Hämoglobin auf die Oberfläche des fertig bereiteten, in Reagensgläsern schräg erstarrten Agars, der dadurch für einige, andern Züchtungsversuchen gegenüber sehr widerspenstige Bakterien ein geeigneter Boden wird, z. B. für Influenzabazillen und Gonokokken.

Ein Tropfen menschlichen **Blutes** wird auf der Oberfläche verrieben. Blutentnahme unter den notwendigen Vorsichtsmassregeln:

Mechanische Reinigung der Fingerbeere mit warmem Seifenwasser und Bürste.

Abwaschen mit Spiritus, Aether, Sublimatlösung (1 ‰).

Uebergiessen mit Alkohol zur Entfernung des Sublimates.

Aufschütten von Aether zur Trocknung.

Einstechen mit geglühter und wieder erkalteter Nadel.

Abnehmen der austretenden Bluttröpfchen mit steriler Platinöse, ohne die Haut zu berühren, und Aufstreichen auf die Agaroberfläche.

Die also vorbereiteten Nährboden werden auf 1 Tag in den Brutschrank gesetzt, um etwaige, trotz der Vorsichtsmassregeln hineingekommene Keime noch rechtzeitig entdecken und die betreffenden Röhrchen ausschalten zu können.

Es eignet sich auch das Blut von Tieren, namentlich der Tauben. Bei seinen Studien über die Aetiologie der Influenza fand nämlich R. Pfeiffer (Z. 13. 362), dass nicht der flüssige Teil des Blutes, nicht das zellenfreie Serum das Nährmaterial für die von ihm entdeckten Bakterien abgibt, sondern das **Hämoglobin,** das er für Kulturzwecke folgendermassen gewann:

Frisch entnommenes Blut (besonders hämoglobinreich ist das von Tauben) wird in einem sterilisierten Glase mit einem grossen Ueberschuss sterilisierter physiologischer (0,6 %iger) Kochsalzlösung geschüttelt und zur Sedimentierung im Eisschrank stehen gelassen. Die roten Blutkörperchen bilden nach 24 Stunden einen feinpulverigen Bodensatz, der vorsichtig abgegossen und dann auf dieselbe Weise noch zweimal mit neuen Mengen der Kochsalzlösung gewaschen wird. Aus diesen roten Blutkörperchen wird nun mittels mehrmaligen Gefrierens und Auftauens oder einfacher durch Schütteln mit einer Spur Aether das Hämoglobin in Lösung übergeführt. Der Aether wird im Vakuum bei niederer Temperatur verdampft und die zurückbleibende, sehr konzentrierte Hämoglobinlösung durch ein Kieselgurfilter gesaugt, wobei die Stromata völlig zurückgehalten werden.

Ein Tröpfchen von dieser klaren, fast chemisch reinen Auflösung des Blutfarbstoffes in 0,6 %iger Kochsalzlösung auf Agar gebracht, ermöglicht die Züchtung ebenso wie volles Blut.

Ueber den Erzatz durch ein Hämoglobinpräparat Hämatogen s. beim Nachweis der Influenzabazillen.

Ersatz des Fleischwassers

wurde durch verschiedne Mittel zu erreichen gesucht, durch Fleischextrakt, Fleischpepton, Harn, Milch bezw. Molken, für besondre Zwecke

(Züchtung in einem dem natürlichen Vorkommen gewisser Kleinwesen möglichst Rechnung tragenden Stoffe) durch Pflanzenaufgüsse oder durch Bierwürze (für gärungsphysiologische Untersuchungen) u. s. w.

Fleischextraktlösungen kommen dem Fleischwasser am nächsten und lassen sich bequem herstellen. Man hat dem Extrakt zum Vorwurf gemacht, es enthalte besonders widerstandsfähige Keime, die die Sterilisierung erschwerten. Das konnte ich nicht finden. Ich habe aus einigen frisch geöffneten Büchsen Proben ausgesät: sie waren keimfrei; in der öfters benutzten Portion fand ich nach einiger Zeit Hefen. Dagegen zeigen die Fleischextraktlösungen Trübungen durch Salze, die sich erst durch wiederholte Behandlung im strömenden, leichter durch einmalige Erhitzung im gespannten Dampf beseitigen lassen. Sie sind nicht so hellbernsteingelb wie das Fleischinfus, sondern mehr bräunlich; dieser Umstand hält mich hauptsächlich ab, sie zur Bereitung von Nährgelatine zu verwenden.

Bei Nähragar, wo man an und für sich schon an etwas dunklere Färbung gewöhnt ist, fällt das nicht so sehr auf; aus Bequemlichkeits- und Billigkeitsrücksichten empfiehlt es sich, die Agarnährboden mit Fleischextrakt anzusetzen.

Dazu stellt man sich erst eine wässrige $1^{1}/_{4}$ %ige Agarlösung (s. S. 79 Anm.) durch Kochen her und gibt dann ausser Pepton und Kochsalz noch 1 % Liebigsches Fleischextrakt zu.

Das Fleischextrakt wird auf einem (durch ein gleich grosses andres tarierten) Stück Papier abgewogen und mit ihm in die Agarlösung geworfen; nach Lösung des Extraktes wird das Papierstückchen wieder herausgefischt.

Im übrigen ist der Gang genau derselbe, wie vorhin geschildert. Zur Neutralisierung ist der sauren Reaktion des Fleischextraktes halber eher etwas mehr als weniger Natronlauge erforderlich.

Um Nährbouillon stets in grössern Mengen vorrätig zu haben und kleinere oder grössere Portionen davon jederzeit entnehmen zu können, ohne sie nachher sterilisieren zu müssen, kann man sie in Flaschen der in Fig. 52 wiedergegebnen Form abfüllen; die eine (a) rührt von Maassen, die andre, ohne Wattestopfen am Ausflussrohr zu gebrauchende von Soyka (D. 88. 875) her. Nach einmaliger Sterilisierung ist der Inhalt vor Verunreinigung geschützt, weniger sicher in der zweiten, als in der ersten Flasche. Die jeweilige Entnahme geschieht, wie im nächsten Abschnitt beschrieben.

Eine ähnliche Vorrichtung gab Plaut (C. 3. 126) an.

Harn in demselben Zustand, wie er entleert wird, zur Kultur zu verwenden, kann nur in besondern Fällen notwendig werden, z. B. bei Untersuchungen über Bakterien der Harngärung u. dgl.

Dazu soll der Urin möglichst arm an Phosphaten sein, wie er im nüchternen Zustande oder möglichst lange nach einer Mahlzeit gelassen wird (Rovsing*).

Ein mit Wattestopfen verschlossener, im Dampf sterilisierter

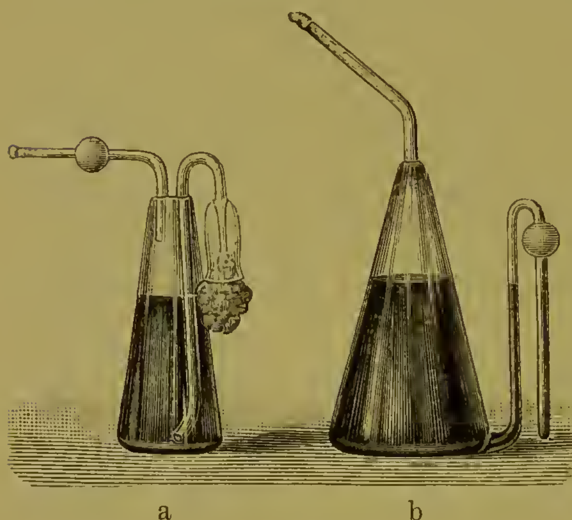
---

*) Rovsing, Die Blasenentzündung, ihre Aetiologie, Pathogenese und Behandlung, Berlin bei Hirschwald 1890.

Kolben steht bereit. Ist die Harnröhrenmündung und ihre Umgebung mit schwacher Karbollösung, warmem sterilisiertem Wasser und keimfreier Watte wohl gereinigt, so nimmt man den Kolben, lässt den Urin zunächst nebenhin gehen und dann erst in den Kolben, der gleich danach wieder mit dem Wattestopfen bedeckt und alsdann für ein bis zwei Tage stehen gelassen wird. Bemerkt man danach keine Entwicklung von Mikroorganismen, so wird der Wattepfropfen durch einen besondern Verschluss ersetzt, der kleine Mengen jederzeit keimfrei zu entnehmen gestattet, ohne dass der Kolbeninhalt durch Luft oder Berührung infiziert wird.

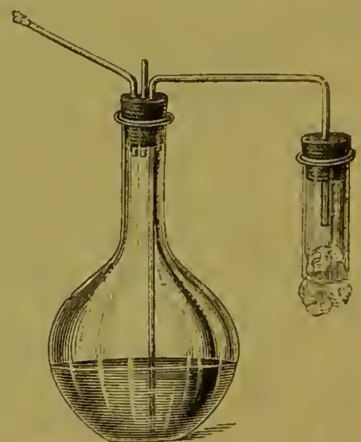
Man kann vorher zur Sicherheit die Befreiung des Harns von Keimen mit Chamberlandschen Thon- oder mit Kieselgurfiltern bewerkstelligen, doch ist das nicht nötig, da die aus der normalen Harnröhre kommende zweite Portion Harn in der Regel keimfrei ist.

Fig. 52.



a b

Fig. 53.



Die Verschlussvorrichtung ist ähnlich der von Forster (Hueppe, Methoden etc. S. 273) angegebnen. Sie wird im ganzen im Dampf sterilisiert und gleich darauf statt des Wattepfropfens rasch auf die den Urin enthaltende Vorratsflasche gesetzt (Fig. 53).

Wir nehmen einen zu dieser Flasche passenden, dreimal durchbohrten Kautschukstopfen. In der ersten Bohrung steckt ein stumpfwinklig gebognes kürzeres Glasrohr, das nur wenige Millimeter in die Flasche hineinragt und einige Zentimeter vor seinem äussern Ende eine ringförmige Einkerbung hat, dem ein Wattebäuschchen aufsitzt. Durch die zweite Bohrung geht eine lange, bis fast auf den Boden der Flasche reichende Röhre, die aussen zweimal rechtwinklig gebogen ist; ihr Ende ist zur Spitze ausgezogen und durch einen Kork (Kautschuk wäre zu schwer) geführt, woran ein mit Watte verschlossenes cylindrisches Glasstück (etwa der abgesprengte Hals eines Kolbens) befestigt ist. Die dritte Bohrung ist mit Watte verschlossen und soll das stramme Einpressen des Stopfens erleichtern, weil der Gummi hier nachgeben kann; sitzt er dann fest, so wird statt dieses Wattepfröpfchens ein Stück eines passenden, sterilisierten Glasstabes hineingeschoben, das seinerseits etwas presst und die Dichtung vervollkommnet. Endlich wird der Gummi und der Kork samt den benachbarten Glasteilen mit heissem Paraffin überzogen (Heim).

Bei der Abfüllung wird der grosse Wattestopfen in einer Klemmpinzette, ohne weiter einen Gegenstand zu berühren, bei Seite gelegt, ein sterilisiertes Reagensröhrchen, dessen Wattestopfen zwischen zwei Fingern derselben Hand gehalten wird, unter den Cylinder geführt, am Ende des kürzern Rohres der Mund

oder besser ein Gummigebläse angesetzt und Harn, soviel man wünscht, aus der Flasche ins Reagensglas gepresst, dann beide Wattestopfen wieder aufgesetzt, nachdem sie in der Flamme oberflächlich abgesengt sind.

Zumeist wird man aber dieses umständlichen Verfahrens entraten und den Harn in Gläschen abgefüllt im Dampf sterilisieren können. Frisch unter den nötigen Vorsichtsmassregeln aufgefangener, in keimfreie Gläschen abgefüllter Harn braucht kaum mehr als $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde im strömenden Dampf zu verweilen. Immer geht jedoch beim Erhitzen ein Teil des Harnstoffes durch Zersetzung verloren; auch erhält man dabei einen mehr oder weniger reichlichen Bodensatz von Phosphaten.

Harn statt Fleischwasser zur Herstellung fester durchsichtiger Nährboden zu nehmen, schlug zuerst Heller (B. 90. 893) vor, indem er gegen das Fleisch ins Feld führte, dass es unter Umständen bereits Produkte beginnender Fäulnis in unkontrollierbarer Menge enthalte, dass es häufig zu Trübungen Anlass gebe, auch teuer sei und nach dem durch das Kochen bedingten Ausfall von Eiweiss eine dem Urin ähnliche Zusammensetzung habe.

Die Herstellung gestaltet sich ebenso, wie mit Fleischwasser.

Der Harn soll möglichst geringes spezifisches Gewicht haben und wird nötigenfalls durch Wasserzusatz auf das spezifische Gewicht von 1010 gebracht.

Will man, sagt Heller, ganz besonders gut entwickelte Kulturen erzielen, so kann man durch Tierkohle einen Teil der Harnfarbstoffe, die (Beziehung zur Galle?) eine Bakterienentwicklung etwas ungünstig zu beeinflussen scheinen, ausfällen.

Milch, ohne weiteres Zuthun im Dampf sterilisiert, hat, trotzdem dass sie undurchsichtig ist, namentlich zur Erkennung gewisser Lebenseigentümlichkeiten der Bakterien vielfache Anwendung gefunden, und für Studien im Interesse der Molkereiindustrie ist sie geradezu unentbehrlich.

Insoweit nicht bestimmte Zwecke dagegen sprechen, verwenden wir gewöhnlich Magermilch, weil die auf der Oberfläche sich ablagernde Fettschicht die Beobachtung stören kann.

Die Zubereitung ist sehr einfach: Möglichst frische, abgerahmte Milch wird gekocht, dann, wie Bouillon, in Reagensgläser gefüllt und etwa $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden im Dampf gehalten. In den meisten Fällen ist sie dadurch keimfrei geworden; jedoch nicht immer. Waren nämlich sehr widerstandsfähige Sporen beim Melken oder nachher hineingekommen, so fangen die durch die Erhitzung vielleicht beeinträchtigten, aber nicht vollständig vernichteten Keime nach einigen Tagen an, auszukeimen. Gewöhnlich sind es solche, die die Milch alkalisch und bitter machen, wobei das Kaseïn zu Boden sinkt und gelbliche Molke darüber stehen bleibt. Vor der Verwendung zu bakteriologischen Arbeiten ist es daher zur Vermeidung von Nachteilen oder Täuschungen notwendig, die Proberöhrchen mehrere Tage in den Brutschrank zu stellen, wodurch sich etwaige keimhaltige erkennen und ausschalten lassen. Zu lange soll die Milch nicht erhitzt werden, weil sie sonst infolge Karamelisierung des Milchzuckers eine bräunlichgelbe Färbung annimmt.

Sicher keimfrei wird die Milch durch ¼stündige Behandlung im Autoklaven bei 121° und 1 Atmosphäre Ueberdruck.

Die vom Kaseïn durch Säurezusatz befreite Milch, die **Molken**, verwendete Petruschky zur Erforschung der Säure- und Alkalibildung durch Kleinwesen nach Zusatz von Lakmustinktur.

Marie Raskin*) beschäftigte sich mit der Herstellung fester durchsichtiger Nährboden aus Milch statt aus Fleischwasser. Ihren Angaben zufolge lassen sich auf ihnen einige Bakterienarten, wie Rotz-, Typhus-, Milzbrandbazillen, Staphylokokkus aureus und albus, Friedländersche Pneumoniekokken u. a. mit besonderm Erfolge und teilweise unter Aeusserung bezeichnender Erscheinungen züchten. Indessen eignen sie sich doch nicht so allgemein für die Kultur, wie die Fleischwasser- und Fleischextraktsubstrate, so dass kein Grund ist, von ihnen abzugehen. Nachdem sie aber zur Vervollkommnung der Hilfsmittel bakteriologischer Forschung dann und wann erwünscht sein können, habe ich ihrer Beschreibung hier Platz gegeben.

Raskin bereitet dreierlei Nährboden:

1. solche, bei denen das Kaseïn beibehalten wird;
2. solche, bei denen es durch Pepton und
3. solche, bei denen es durch Natronalbuminat — aus Hühnereiweiss hergestellt — ersetzt wird.

I. Milchpeptongelatine. 1000 ccm Milch in Porzellanschale auf 60—70° C. erwärmen.

Lösung von 60—100 g Gelatinetafeln.

Erhitzen und Kochen, bis das Kaseïn geronnen ist.

Trennung der Flüssigkeit vom Kaseïn mittels Pressen durch ein Stück vierfach zusammengelegter, mässig dünner Leinwand.

Die noch heisse Mischung kommt in den Brutschrank, damit das Fett aufsteigen kann.

Erkaltenlassen und Abschöpfen der Fettschichte.

Wiederum bis zum Sieden erhitzen.

Zusatz von 1 % Pepton, 0,5 % Kochsalz.

Neutralisieren und Alkalisieren.

Filtrieren im Heisswassertrichter.

Die erste Portion, etwa 15—50 g, ist gewöhnlich trüb und wird weggeschüttet. Die fertig filtrierte Gelatine ist völlig klar, durchsichtig, wie Wasser, sehr wenig oder gar nicht gefärbt und trübt sich weder beim Aufkochen noch beim Erkalten.

II. Milchpeptonagar. Wird in ähnlicher Weise bereitet, nur länger gekocht. Die Gerinnung des Kaseïns geht hier nur langsam und allmählich von statten und das Kochen muss so lange fortgesetzt werden, bis sich die gleichmässig trübe, weisse Flüssigkeit zu klären beginnt.

III. Milchkaseïngelatine oder -Agar. Zuerst wird eine Mischung von Molken mit Gelatine oder Agar, dann eine Lösung von Kaseïn bereitet und beide zusammengegossen.

Kaseïnbereitung. Eine bestimmte Menge abgerahmter Milch bleibt 48 Stunden stehen. Der aufgestiegene Rahm wird entfernt und die saure Milch 20—25 Minuten auf 70—80° C. erwärmt. Dann wird das Kaseïn ausgepresst und zu möglichst feinem Pulver, allenfalls unter Zusatz von wenig Wasser sorgfältig zerrieben, mit 95 % Alkohol gewaschen und in einen Kolben mit Aether eingetragen. Nach 20 Minuten, während deren der Kolben alle 2 Minuten tüchtig geschüttelt wurde, giesst man den Aether ab und ersetzt ihn durch frischen. Das wird 3—4mal wiederholt, die letzte Portion Aether aber zur Hälfte im Kolben

*) M. Raskin, Zur Züchtung der pathogenen Mikroorganismen auf aus Milch bereiteten festen und durchsichtigen Nährboden. St. Petersburger mediz. Wochenschr. 1887, Nr. 43 S. 357.

gelassen, aufs neue Alkohol aufgegossen und 5 Minuten geschüttelt. War in der letzten Portion Aether noch Fett vorhanden, so steigt es im Alkohol tropfenweise in die Höhe; in diesem Falle ist das Waschen mit Aether zu erneuern und damit so lange fortzufahren, bis er beim nachfolgenden Schütteln mit Alkohol fettfrei erscheint. Das Kaseïn wird dann auf einem Filter gesammelt, getrocknet und 15—20 Minuten bei 120—140° erhitzt, wobei es sich in zähe Klumpen verwandelt. Wäscht man diese in einer mässig konzentrierten Kalilauge, so werden sie durchsichtig, wie Horn und nach genügendem Austrocknen steinhart. Das so bereitete Kaseïn löst sich leicht bei gelinder Wärme in schwach alkalischem Wasser und gibt wasserhelle, nur leicht bläulich opaleszicrende Lösungen; ist die Opaleseenz zu stark oder die Lösung gar trüb, so wird sie mehrmals filtriert.

Zur Anfertigung von Milchkaseïngelatine und -Agar werden 150 ccm einer 8 % Kaseïnlösung mit 350 ccm einer filtrierten Mischung von Molken mit 12 % Gelatine resp. 1,75 % Agar zusammengegossen, 15—20 Minuten auf 60 bis 70° C. erwärmt (nicht bis zum Kochen, da das Kaseïn dabei häufig gerinnt) und abgefüllt. Die Mischung enthält 2,5 % Kaseïn und 8 % Gelatine.

IV. Milcheiweissgelatine und -Agar wird bereitet, wie die Peptonnährboden, nur statt des Pepton eine gesättigte Lösung von Natronalbuminat hinzugefügt, am geeignetsten zu 10 %.

Gewinnung des Natronalbuminates: Das Eiweiss von frischen Hühnereiern wird in einer flachen Schale mit einem Glasstäbchen tüchtig gerührt und dabei tropfenweise konzentrierte Natronlauge zugesetzt, bis eine feste, durchsichtige Gallerte entsteht. Sie wird in kleine Stücke zerschnitten, in einen Kolben mit destilliertem Wasser eingetragen, nach kurzem Umrühren das Wasser abgegossen, durch frisches ersetzt und das Waschen so lange fortgesetzt, bis die letzte Portion Wasser nur schwach alkalisch reagiert. Das so gereinigte Natronalbuminat wird wiederum in einen Kolben mit der gleichen Menge destillierten Wassers eingetragen. der Kolben mit Wattepfropf versehen und 1/4—1/2 Stunde im Dampfapparat erwärmt. Das dadurch gelöste Albuminat wird filtriert. Die damit bereiteten Nährboden sind völlig durchsichtig, nur leicht gelb gefärbt und trüben sich weder beim Aufkochen noch beim Erkalten. Lässt man frisch bereitetes Natronalbuminat, ohne es auszuwaschen, einige Stunden stehen, so verflüssigt es sich von selbst zu einer dicken, gelben, stark alkalisch reagierenden Flüssigkeit, die dieselben Eigenschaften besitzt, wie die gesättigten Lösungen, aber wegen zu starker Alkalescenz für die Bereitung von Nährboden nur wenig geeignet ist.

Ein mit Milch bereiteter Agarnährboden wird erst bei 35—37° C. fest. Nach van Puteren (Cr. 5. 181), der sich viel mit der Herstellung von Milchnährboden befasste, kann die Gerinnung der Milch rascher bewirkt werden, wenn man die pepsinfreie Labessenz nimmt (pepsinhaltiges Lab nimmt der Gelatine ihr Erstarrungsvermögen). Die Filtration geschieht vorteilhaft im luftverdünnten Raum.

Blutserum

ist für manche Zwecke unentbehrlich. Es ist ein eiweisshaltiger Nährboden von hervorragenden Eigenschaften und wird sowohl im flüssigen wie im erstarrten Zustande verwendet. Sein Eiweissgehalt schliesst eine Sterilisierung bei hohen Hitzegraden aus. Bei 65° wird es fest, ohne an Durchsichtigkeit wesentlich einzubüssen.

Am meisten wird das Blut grösserer Schlachttiere, von Rindern und Hammeln genommen; für besondre Untersuchungen vom Menschen.

Die zum Auffangen des Blutes der Schlachttiere gebräuchlichen hohen Glascylinder (40 : 8 cm) mit eingeriebnen Stopfen müssen vorher mechanisch mit gekochtem, warmem Wasser und ausgekochten Tüchern gründlich gereinigt und mit Spiritus- und Aetherspülung getrocknet werden.

Ist die Halsschlagader des Tieres geöffnet, so lässt man die ersten ausströmenden Blutmengen nebenhin gehen und fängt erst die folgenden unter Vermeidung des Hineingelangens von Haaren u. s. w. auf.

Geschächtete Tiere eignen sich nicht, weil nach der Durchschneidung der Luftröhre das Blut leicht verunreinigt, auch schaumig und dann zur Abscheidung von Serum ungeeignet wird.

Menschliches Blutserum gewinnt man nach Bumm (D. 85. 910) aus Nachgeburten, während der Mutterkuchen noch im Uterus sitzt. Die Schnur wird nach den ersten Atemzügen des Neugeborenen in der gewöhnlichen Weise doppelt unterbunden und durchtrennt, der plazentare Rest mit Sublimat und sterilisiertem Wasser gereinigt, mit den Fingern zusammengedrückt und oberhalb der Unterbindung nochmal durchschnitten. Bringt man jetzt das Ende der Schnur in den Hals eines sterilisierten Glaskölbchens und lässt mit der Kompression nach, so entleeren sich in dickem Strahl aus der Vene 15—20 ccm Blut. Jede weitere Wehe und jeder Druck auf den Uterus treibt viel besser, als es sich mit der Hand ausführen lässt, neue Mengen Blutes in die Vene und von da ins Gefäss. Je nach der Zeit der ersten Unterbindung erhält man auf einmal 40—60 und mehr ccm Blutes. Da das menschliche Blut nicht sehr leicht und zu nicht sehr festem Kuchen gerinnt, ist ein möglichst ruhiger Stand des Gefässes während 18—24 Stunden notwendig. Kommt auf diese Weise eine richtige Gerinnung zustande, so lassen sich etwa 15—20 ccm vollkommen klaren Serums abheben.

Die zu etwa $^2/_3$ ihrer Höhe mit dem Blut von Schlachttieren gefüllten Cylinder werden an einem kühlen Orte aufgestellt; liegt das Laboratorium nahe am Schlachthause, dann kann man den kurzen, schonend ausgeführten Transport wagen. Hat die Gerinnung begonnen, so wird ein Glasstab zwischen Blutkuchen und Glaswand rings herum geführt, um die Serumabscheidung nicht zu behindern. Nicht immer wird man sie erfolgen sehen. Ist sie aber eingetreten, so steht eine klare, bernsteingelbe Flüssigkeit über dem Blutkuchen. Diese wird vorsichtig mit einer Pipette abgehoben. Sowie rote Blutkörperchen aufsteigen, muss das Ansaugen sofort aufhören. Die Pipetten wurden vorher mit heissem Wasser gereinigt und mit Alkohol ausgespült. Dampfsterilisierung vertragen sie nicht; Sublimatanwendung ist nicht ratsam, es müsste denn reichlichst mit Spiritus nachgewaschen werden. Mehr als etwa 100—200 ccm recht klaren Serums lassen sich aus 1—1 $^1/_2$ l Blut kaum gewinnen. Jedoch können die Entnahmen von demselben Blute an mehreren Tagen hintereinander gemacht werden; erst wenn Bakterienentwicklung, ein Häutchen an der Oberfläche u. dgl. sich zeigt, ist der Entnahme ein Ziel gesteckt.

Für die Darstellung von Serum empfahl Wright (Journal of pathol. and bacteriol. I. 1) dem Blute durch Zusatz von $^1/_{20}$ des Volums 1 % Natriumoxalat die Kalksalze teilweise zu entziehen, wodurch infolge schneller Schrumpfung der geronnenen Masse eine möglichst grosse Menge Flüssigkeit erhalten wird, die zwischen Serum und Plasma in der Mitte steht. Durch Erhitzung auf 50—60 ° befreit man sie vom Fibrinogen und erhält dann im Filtrat eine dem normalen Serum gleichwertige Masse (C. f. klin. Med. 93. 586).

Die einfachste Art, das Serum keimfrei zur sofortigen Verwendung zu machen, ist die Filtration durch Thon- oder Kieselgurfilter im luftverdünnten Raume.

In Ermanglung dieser Einrichtung wird man entweder diskontinuierlich die in Reagensgläser abgefüllten Proben an sechs Tagen je eine Stunde bei 58 ° sterilisieren, oder man geht gleich zur Erstarrung über, die bei 65 ° zu geschehen hat. Etwa 10 % der Gläser werden durch nachträgliche Bakterienentwicklung unbrauchbar.

Sehr gut eignet sich das Chloroform zur Sterilisierung. Es gestattet, auf Monate und Jahre hinaus sich Blutserum in beliebiger Menge vorrätig zu halten. Man deckt seinen Bedarf ein- oder zweimal im Jahre gleich mit grössern Mengen. Nur das erstmalige Ansetzen erfordert Geduld; denn bis zur endgültigen sichern Sterilisierung durch Chloroform vergehen immerhin etwa zwei Monate.

Das Verfahren ist sehr einfach, einfacher sogar, als die Bereitung andrer fester und durchsichtiger Nährboden. Eine Anzahl mit Wattepfropf verschlossner Medizinflaschen von 100 ccm Inhalt sind im Trockenschrank bei 160 ° oder im strömenden Dampf sterilisiert worden. Nun kochen wir ebensoviele, zu ihnen passende Gummistopfen in einem Töpfchen mit durchlochtem Blecheinsatz in destilliertem Wasser aus, nehmen danach mit einer geglühten Pinzette jeden einzeln heraus und stellen ihn, mit der Breitseite nach unten, für einige Augenblicke in den Trockenschrank, dessen Temperatur etwa auf 60 ° gebracht ist. Die getrockneten Pfropfen fassen wir, ohne sie an der Stelle, mit der sie ins Glas kommen, zu berühren, und drehen sie in den Flaschenhals ein, der von Daumen und Zeigfinger der linken Hand umschlossen gehalten wird. Damit begeben wir uns an den Aufbewahrungsort des Serums, füllen die Fläschchen ziemlich voll und geben dann noch 1 ccm Chloroform zu. Ist der Stopfen wieder aufgesetzt und recht fest eingedreht, so überziehen wir ihn noch mit heissem verflüssigten Paraffin. Mehrmaliges sanftes Neigen sorgt für Vermischung von Chloroform mit Serum (Löslichkeit etwa 0,6 ‰). So zubereitet, werden die Portionen vor Licht geschützt mindestens zwei Monate aufbewahrt, halten sich aber unbegrenzt. In dieser Zeit setzt sich überschüssiges Chloroform samt den etwa vorhandnen roten Blutkörperchen am Grunde ab.

Soll nach Ablauf der genannten Frist der ganze Inhalt — was selten der Fall — etwa zu einer sog. Massenkultur in flüssigem Zustande verwendet werden, so wird der Gummistopfen durch den Wattepfropf eines andern sterilisierten, leeren Gläschens ersetzt und einige Tage gewartet; das Chloroform verflüchtigt allmählich, namentlich unter Zuhilfenahme einer höhern Temperatur, etwa von 55—60 ° oder wenigstens des Brutschrankes (Chloroform siedet bei 61 °).

Doch ist dieses Verfahren nicht ganz einwandsfrei; denn es können immer noch Spuren von Chloroform oder gewisser im Laufe der Zeit entstandener, chemische Umsetzungsprodukte darin bleiben, die einen wachstumbehindernden Einfluss auf die Bakterien ausüben.

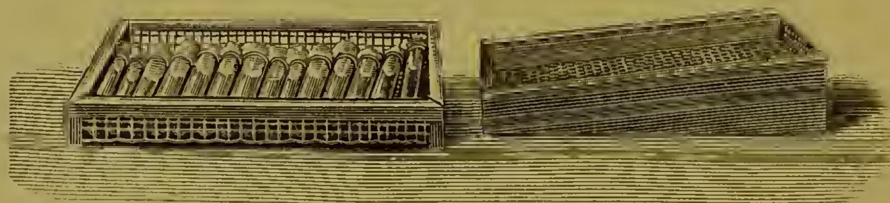
Weniger ist das zu befürchten, wenn zur Herbeiführung der Erstarrung Wärmegrade zwischen 65 und 68 ° einwirken. Dazu wird der Inhalt der Medizinflaschen zu etwa 7—8 ccm in mit Wattestopfen verschlossne, bereits sterilisierte Reagensröhrchen abgefüllt; nimmt man engere (10 mm im Lichten), so kommt man mit geringern Mengen aus. Vor der Abfüllung werden Stopfen und Flaschenrand von Staub gründlich gereinigt, der Stopfen abgenommen und der Flaschenrand

mehrmals durch die Flamme gezogen. Während des Abfüllens wird das Fläschchen stets ruhig in geneigter Lage gehalten, damit der Bodensatz nicht aufwirbelt. Das Reagensröhrchen aber muss in einen spitzen Winkel zur Flasche gestellt werden, um jede Benetzung seiner Innenwand an der Stelle, wo der Wattepfropf zu sitzen kommt. zu vermeiden.

Zur Erzielung einer möglichst grossen Oberfläche für die Kultur gibt man allen Röhrchen eine schräge Lage. Dazu gehören eigne abgeschrägte, flache Gestelle, Einsätze des Wärmeschrankes (S. 127), deren welche in Fig. 54 wiedergegeben sind. Im Handel bekommt man auch Einsätze, die eben gearbeitet, durch Aufstellung eines oder zweier beweglicher Blechfüsse höher und niedriger gerichtet werden können.

Die Innenwärme des Kastens wird auf 65 ° gebracht und soll 68 ° nicht übersteigen; zwei Thermometer, das eine ins Wasser des Mantelraumes, das andere ins Innere des Apparates reichend, sind nötig, entbehrlich dagegen ist ein Thermoregulator, da man die Grösse der Flamme bei einiger Aufmerksamkeit selbst regeln kann.

Fig. 54.



Die Erstarrung lässt oft ziemlich lange auf sich warten und es empfiehlt sich deshalb, ein Schälchen mit Wasser gefüllt in den Wärmeschrank zu stellen, damit die Nährboden nicht zu sehr austrocknen. Oft wird man an einem Tage nicht fertig und beginnt dann am nächsten die Erwärmung von neuem. Von Zeit zu Zeit sieht man nach, in welchen von den Röhrchen die Erstarrung bis zum richtigen Masse gediehen ist; bei dieser Prüfung schlägt man das Röhrchen sanft gegen die Rückseite des Daumens; die Masse darf nicht merklich zittern; der (sterilisierte) Platindraht darf sich nicht leicht in das richtig erstarrte Serum eindrücken lassen. Am ehesten sind die Röhrchen fertig, die nahe der Wand und dem Boden des Kastens lagen.

Nicht alle Blutserumarten erstarren gleichmässig rasch. Am langsamsten geht es beim Kälberserum; mitunter kommt man damit überhaupt nicht zum Ziel. Am besten eignet sich Rinder- und Hammelserum.

Gelungenes Serum ist ganz oder grösstenteils durchsichtig. Am Grunde der Röhrchen sammelt sich vom Serum ausgeschwitztes Wasser. Dieses Schwitzwasser darf die Oberfläche nicht bespülen, die fertigen Röhrchen sollen daher nie mehr schräg gehalten oder gelegt werden.

Bei 65—68 ° geronnenes Blutserum verträgt nach Hueppe (Meth. S. 265) noch mehrmaliges Erwärmen auf 90 ° und kann dieser Temperatur zur nachträglichen Sterilisierung ausgesetzt werden.

Zusatz von Glyzerin (6—8 %) setzt seine Brauchbarkeit für

manche Züchtungen, z. B. von Tuberkelbazillen (Nocard & Roux) nicht herab, verlangt aber dann 75—78 ° zur Erstarrung.

Als sehr geeignet hat sich ein Zusatz von Traubenzucker-Pepton-Bouillon für die Züchtung von Diphtheriebazillen (Löffler, KM. 2. 452), sowie andrer Bakterien erwiesen. Wertheim gelang es, auf einer derartigen Mischung mit menschlichem Blutserum die Gonokokken zu einer bis dahin nicht erreichten kräftigen Entwicklung zu bringen. Man mischt: 3 Teile Rinder- oder Hammelblutserum (oder menschliches Blutserum) mit 1 Teil einer Bouillon aus:

Fleischwasser Pepton 1 % Kochsalz 0,5 % Traubenzucker 1 %	alkalisiert, filtriert und sterilisiert.

Die Mischung wird nach diskontinuierlicher Sterilisation in der beschriebnen Weise zum Erstarren gebracht.

Um die Möglichkeit zu haben, auch bei Plattenkulturen sich der Vorteile des Blutserums bedienen zu können, versetzte es Hueppe mit etwa der gleichen Menge warmer Agarlösung (C. 1. 610). Unna hob seine Gerinnungsfähigkeit durch starke Alkalisierung auf, um es dann zu Gelatine und Agarsubstraten zu verarbeiten (Cr. 1. 729).

Nach Koch lässt sich Blutserum, das mit 9 Teilen Wasser verdünnt ist, sterilisieren, ohne seine Durchsichtigkeit zu verlieren, ja selbst im Verhältnis von 1 : 5 verdünnt, bleibt es nach dem Kochen noch vollständig klar (Behring Z. 6. 141).

Brieger und C. Fränkel fanden eine zu 10 % mit sterilem flüssigem Rinderblutserum versetzte peptonhaltige Bouillon als besonders geeignet für Kulturen von Diphtherie u. a. Bakterien, die auf giftige Eiweissstoffe verarbeitet werden sollen (B. 90. 244).

Einen Nährboden von ähnlicher Zusammensetzung, wie das Blutserum besitzt, kann man aus serösen Ausschwitzungen, Ascites- oder Hydrocelenflüssigkeit erhalten.

Von einigen Seiten wurde Eiereiweiss als Ersatz des Blutserums empfohlen. So hat Schenk das unter aseptischen Vorsichtsmassregeln aufgefangene Eiweiss der Kibitzeier mit einem Viertel Raumteil sterilisierten Wassers verdünnt und — je nach Erfordernis mit Kochsalz, Dextrin, Kleister, Zucker, Glyzerin etc. versehen — in Reagensgläsern bei 65—70 ° zum Erstarren gebracht. Irgend welchen Vorteil vor andern scheint mir nach den Schilderungen von Dal Pozzo u. a. dieses teure und schwer beschaffbare Nährmittel nicht zu haben.

Tarchanoff, Mourawoff und Kolessnikoff erzielten einen durchsichtigen Nährboden aus Eiweiss mit Hilfe von Alkalien. Hühnereier wurden mit der Schale 4 Tage lang in 5—10 %ige Kalilauge gelegt. Das Eiweiss war dann flüssig-gelatinös und durchsichtig; davon bereiteten sie

1. Bouillonalbuminat durch Verdünnung mit Wasser 1 : 10;
2. sirupartiges Alkalialbuminat durch Verdünnung mit Wasser 1 : 2;
3. festes Alkalialbuminat ohne Wasserzusatz durch Sterilisierung bei 105 ° (in Reagensgläsern).

Liessen sie die Eier 14 Tage in der Lauge, so wurde das Ei-

weiss, ohne seine Durchsichtigkeit zu verlieren, gelatineartig fest und konnte in feine Scheiben zerschnitten, nach Art der Kartoffelscheiben verwendet werden (J. 3. 478).

J. Rosenthal & O. Schultz stellten einen festen, durchsichtigen Nährboden unter Verwendung von Alkali aus Hühnereiern in folgender Weise her: Frisches Hühnereiweiss wird durch eine doppelte Lage von Musselin gepresst und dem vollkommen klaren, von Luftblasen freien Filtrat in einem mit eingeschliffnem Stopfen versehenen Messcylinder stark verdünnte Natronlauge und verdünnte (nicht alkalisierte) Nährbouillon zugegeben, dann die Masse einige Stunden stehen gelassen und unterdessen durch wiederholtes Hin- und Herneigen (nicht Schütteln!) innig vermischt. Die geeignetste Zusammensetzung des in wohlsterilisierten Gefässen angesetzten Substrates ist:

Hühnereiereiweiss	. . . .	5,0 ccm
1 %ige Natronlauge	. . . .	2,2 ccm
Fleischwasser-Peptonlösung, 1/2 %ige Kochsalzlösung	zu gleichen Teilen vermischt	2,8 ccm.

Es wird, in sterilisierte Reagensgläser abgefüllt, in heissem (nicht siedendem) Wasser von 95—98° zum Erstarren gebracht. (Cr. 4. 314.)

Noch einfacher ist es, mit Verzicht auf die Durchsichtigkeit, gekochtes Hühnereiweiss zu nehmen. Hesse sticht zu diesem Ende aus frisch gesottenen Eiern 1 ccm grosse Würfel aus und sterilisiert sie in Reagensgläsern von 10 mm lichter Weite (Z. 11. 237), während Sakharoff längliche Stücke schneidet und zur Vermeidung des Eintrocknens etwas sterilisiertes Wasser auf den Boden der Röhrchen bringt (P. 6. 451).

Zörkendörfer züchtete Bakterien, die er in verdorbnen Eiern gefunden hatte, auf dem in Kölbchen übergefüllten, zur Vermeidung gröberer Veränderungen an drei aufeinander folgenden Tagen bei 55° sterilisierten Eiinhalte, um die in der Wirklichkeit sich abspielenden Veränderungen wenigstens annähernd vor Augen zu haben. Frische Eier wurden aufgeschlagen, das Eiweiss, wie in der Küche üblich, durch mehrmaliges Ueberfüllen des Eiinhaltes von einer Schalenhälfte in die andre in sterilisierte Kölbchen gefüllt, dann der Dotter auf die Mündung des Kölbchens gelegt und dieses selbst in Eiswasser gestellt, wodurch der Dotter durch den Luftdruck hineingepresst wurde; allenfalls half er durch Hineinblasen nach, indem er den Hals des Kölbchens mit den Lippen umschloss. Dann wurde ein Wattepfropf (für die besondern Versuche mit Bleizuckerlösung getränkt) aufgesetzt und, wie oben erwähnt, sterilisiert. Dabei ward zwar das Eiweiss weisslich trübe, behielt aber seine Konsistenz bei und veränderte sich nach der Impfung in derselben Weise, wie frische Eier (A. 16. 380).

Eine grössere Bedeutung kommt der Verwendung des nicht erhitzten Eiweisses für die Züchtung der Bakterien zum Studium ihrer Stoffwechsel- und Umsetzungsprodukte zu. Hueppe hat zuerst das **Hühnerei,** wie es ist, als Nährmittel genommen (C. 4. 80). Es ist freilich nicht nur flüssig und undurchsichtig, sondern gestattet auch überhaupt nicht, die Entwicklung der Kultur zu beobachten. Aber

in der Hand des Geübteren, der sich vor Täuschungen, wie sie durch zufällige Verunreinigungen bedingt sein können, zu bewahren versteht, lässt es sich vorteilhaft zu bakteriologischen Studien ausnützen. Mit einigen Abänderungen der ursprünglichen Anweisung verfahre ich, wie folgt:

Frische Hühnereier werden in Sodalösung gereinigt, gewaschen und in Sublimatlösung (1 ‰) gelegt. Vor der Beimpfung übergiesse ich sie der Reihe nach mit Schwefelammonium, Spiritus und Aether, stelle sie in ein Glasklötzchen, steche an der Spitze mit einer geglühten Nadel ein und bringe das Impfmaterial mit einer frisch ausgezogenen Glaskapillare, die ich während des Zurückziehens sorgfältig ausblase, möglichst weit ins Innere des Eies. Der Verschluss geschieht mit einer Spur Watte, die aus einem sterilisierten Reagierglase mit geglühter Pinzette genommen wird, und mit aufgeträufeltem Kollodium elasticum.

Zu lange dürfen die Eier nicht in der Sublimatlösung liegen, sonst dringt sie allmählich ein.

Fleisch in sterilisiertem Zustande zur Kultur zu benützen, empfahl Bockhart*); Lübbert**) den Fleischsaft, hergestellt aus Fleisch, das ohne Wasserzusatz im verschlossnen Kolben etwa 4 Stunden im kochenden Wasserbad behandelt war, worauf durch ein Tuch koliert und filtriert wurde; 2 Pfund Fleisch geben etwa 300—400 ccm tieforangefarbenen Saftes, der nach dem Erkalten zur Gallerte erstarrt; er wird in Erlenmeyersche Kölbchen gebracht und sterilisiert.

Fleischscheiben nach Král***): 100 g Fleischpulver werden mit 300 ccm peptonisierter Fleischbrühe in einer Porzellanreibschale zu Brei verrieben, dieser zwischen mit Glyzerin befeuchtete, kreisrunde Glasplatten geschichtet, die zu 10—15 übereinander — einer Voltaschen Säule ähnlich — in eine entsprechend hohe und weite Blechbüchse gebracht werden. Die Büchse, die zweckmässigerweise mit einem Deckel mit sog. Bajonettverschluss versehen ist, wird hierauf mit Bouillon vollgefüllt und mit dem Deckel verschlossen. Die beschickten Glasplatten sollen etwas über den Büchsenrand hervorragen, damit der Deckel sie beim Schliessen mit einigem Druck festhält. Die gefüllten Büchsen lässt man 15 Minuten lang im Dampftopf bei 100°, nimmt die Glasplatten mit den fest gewordenen und leicht anhaftenden Fleischscheiben ab und schneidet aus dem gelungensten Teile der Scheiben mittels des Kartoffelbohrers ein kreisrundes Stück heraus. Dieses wird mit einem Spatel von der untern Glasplatte behutsam abgelöst und in eine Glasdose übertragen. Ist das mit allen Portionen geschehen, so werden die Dosen im strömenden Dampf mindestens eine Stunde lang sterilisiert. Die Fleischscheiben haben glatte Oberfläche und braune bis gelblichweisse Farbe. Auf keinem andern Nährboden lassen sich nach Král so eigentümliche, bezeichnende Wachstumsbilder der Fadenpilze der Haut erzielen als auf ihnen.

---

*) Tageblatt der 60. Naturforscherversammlung 1887. S. 347.

**) Lübbert, Biologische Spaltpilzuntersuchungen. Der Staphylococc. pyog. aur. Würzburg bei Stahel 1887. S. 7.

***) Verhandlungen der Deutschen dermatologischen Gesellschaft. 1. Kongress zu Prag. 1889. Wien bei Braumüller. S. 93 f.

Reisscheiben bereitete Král ohne Bouillon (zur Vermeidung der gelblichen Färbung), für seine besondern Untersuchungen über Hautmikrophyten folgendermassen:

100 g Reispulver werden in einer Reibschale mit 250 ccm abgerahmter Kuhmilch innig vermischt, in einer Porzellanschale über einer Flamme unter fortwährendem Bewegen in einen steifen Brei übergeführt und dieser noch heiss mittels eines Hornspatels in einen Kartoffelbohrer eingestrichen, derart, dass keine Zwischenräume entstehen. Nach dem Erkalten schiebt man den so erhaltenen Reiscylinder mit dem Bohrerstempel etwas vor, schneidet mittels eines bogenartig gefassten, straff angespannten und möglichst dünnen Platindrahtes die unebene Kuppe und demnächst in gleicher Weise Scheiben von 6—7 mm Dicke ab, die man sofort in Glasdosen überträgt. In jede Dose kommen ausserdem noch 8 Tropfen Milch, dann wird 1—1½ Stunden im Dampf sterilisiert.

Milchreis nach Soyka (D. 88. 833). Man nimmt:

Von frisch pulverisiertem Reis 100 Gewichtsteile.

Von einer Mischung aus: 3 Teilen Milch, 1 Teil Bouillon } 210 Massteile.

Die Masse wird in einer Reibschale gleichmässig verrieben, mit einer Pipette in Glasschälchen (mit Deckel) gefüllt und sterilisiert.

Milch wie Reis sind vor der Vermischung gesondert keimfrei zu machen, damit die endgültige Sterilisierung in möglichst kurzer Zeit vollzogen ist: dadurch werden Farbenveränderungen und Zersetzungen vermieden.

Kartoffeln.

Gebrauchsgegenstände: Schüssel mit Wasser, nicht zu seichte Schale mit 1 ‰ Sublimatlösung gefüllt, Bürste, gewöhnliches Messer, mehrere Küchenmesser mit Bleibeschwerung im Heft in Blechbüchse trocken bei 160° sterilisiert oder soeben in der Flamme ausgeglüht, Kartoffelbohrer oder Korkbohrer. Dampfapparat nebst Einsatz mit Deckel und Gitterboden. Doppelschalen von Glas (Durchmesser der obern etwa 22 cm) zu feuchten Kammern, oder kleine Doppelschalen (Durchmesser der untern 4 cm) oder Reagensröhrchen mit oder ohne Einlage eines kurzen Glasröhrchens auf dem Boden.

Herrichtung der feuchten Kammer: Der Umriss der untern, wie der obern Schale (von etwa 22 cm Durchmesser) wird auf Fliesspapier gezeichnet und das Papier in dieser Form geschnitten. Die runden Blätter werden dann in die Schalen gelegt, Sublimatlösung aufgegossen, auch die Wände beider Schalen damit bespült und die Lösung ausgeschüttet; die Schalen werden umgekehrt gehalten, bis kein Tropfen mehr abläuft und die Seitenwände mit reinem Tuche getrocknet. Dann deckt man die grössere Schale über die kleinere.

Das Filtrierpapier der grössern liegt auf dem obern Rand der kleinern und dichtet gegen hineingelangende Keime.

Da aber beim Aufheben des Deckels zur Impfung der Kartoffeln zu viel keimhaltige Luft einströmt, hat Dahmen folgende Abänderung ersonnen:

Ein 7—8 mm dicker Kautschukschlauch wird der Länge nach einmal durchschnitten und über den Rand der unteren Schale gezogen, so dass die beiden Enden des Schlauches sich wieder berühren; sie können noch mit angewärmtem Guttaperchapapier verklebt werden. Der Schlauch schmiegt sich den Krümmungen der Schale genau an. Als Deckel bedient man sich einer 2—5 mm dicken hellen

Glasplatte, die achteckig gleichseitig ist und einen solchen Durchmesser hat, dass die Schale mindestens 2 cm überragt wird.

Der Verschluss ist ein hermetischer. Da man den Deckel mit zwei Fingern einer Hand lüften kann, so ist die andre Hand zum Impfen frei, während bei den Doppelschalen der Deckel stets mit zwei Händen aufgehoben und beiseite gelegt werden muss, so dass fortwährend Luftkeime auf die freiliegenden Nährboden gelangen müssen. (C. 12. 466.)

Dieser Missstand lässt sich vermeiden, wenn ein Gehilfe die Deckschale während der Beschickung oder Impfung über die untere hält; ein Gehilfe ist entbehrlich, wenn die Deckschale einen Knopf besitzt, der aber deshalb unpraktisch ist, weil er verhindert, mehrere Schalen übereinander zu stellen. Die sich etwa auf der Innenseite des Deckels niederschlagenden Wasserdämpfe werden durch Schrägstellung der Kammer unschädlich gemacht.

A. **Halbierte Kartoffeln** in feuchten Kammern nach Koch.

Völlig gesunde, unverletzte Kartoffeln, am besten sog. Salatkartoffeln, werden mit einer Bürste unter Wasser gründlich von Erde und Schmutz befreit, die letzten Reste aus den verschiednen kleinen Vertiefungen („Augen“) mit dem Messer unter Schonung des Oberhäutchens ausgekratzt und nochmals in reinem Wasser abgespült.

Einlegung in 1 ‰ige Sublimatlösung 1 Stunde lang.

Uebertragung in das Einsatzgefäss.

Sterilisierung im strömenden Dampf ¾ Stunden lang.

Herrichtung der feuchten Kammern.

Herausnahme aus dem Dampf und etwas abkühlen lassen.

Hände gründlich waschen, reinigen und mit Sublimatlösung desinfizieren.

Eine Kartoffel zwischen 2—3 Finger der linken Hand nehmen.

Der Länge nach mitten durchschneiden mit einem geglühten, noch warmen Messer, ohne die beiden Hälften voneinander zu entfernen.

Lüftung des Deckels, Einlegung der Kartoffel.

Auseinanderklappen der beiden Hälften, Schliessen des Deckels, u. s. f.; für jede Kartoffel ein eigenes Messer; muss eins zweimal gebraucht werden, so entferne man vor dem Glühen erst alle von vorhin anhaftenden Teilchen.

In der Regel sollen nicht mehr wie vier halbe Kartoffeln in einer Schale untergebracht werden; jedenfalls ist eine Berührung der Stücke untereinander, oder gar der Schnittfläche mit den Fingern zu vermeiden.

Halbierte Kartoffeln werden nur zum augenblicklichen Gebrauch genommen und mittels strichförmiger Impfung besät; die Impfstriche sollen sich ½—1 cm vom Rand entfernt halten.

B. **Kartoffelscheiben** in Doppelschälchen nach E. v. Esmarch.

Die gründlich gebürsteten und gewaschnen Kartoffeln werden mit (nicht sterilisiertem) Messer geschält.

Abspülung unter der Wasserleitung.

Zerlegung der Kartoffel in ½—1 cm dicke Scheiben mit frischem Messer.

Abrundung der Scheiben nach der Grösse der Schälchen (der Kartoffelbohrer [Král, S. 65] macht sie besser; mit ihm wird erst der Cylinder ausgestochen, dann werden die Scheiben geschnitten).

Einlegung in die Doppelschälchen (von etwa 4 cm Durchmesser).

¾—1 Stunde im Dampf sterilisieren.

C. Schräg halbierte Kartoffelcylinder in Reagensgläsern nach Bolton, Globig und Roux.

Möglichst grosse Kartoffeln werden wie vorhin gereinigt und geschält.

Abwaschung unter der Leitung.

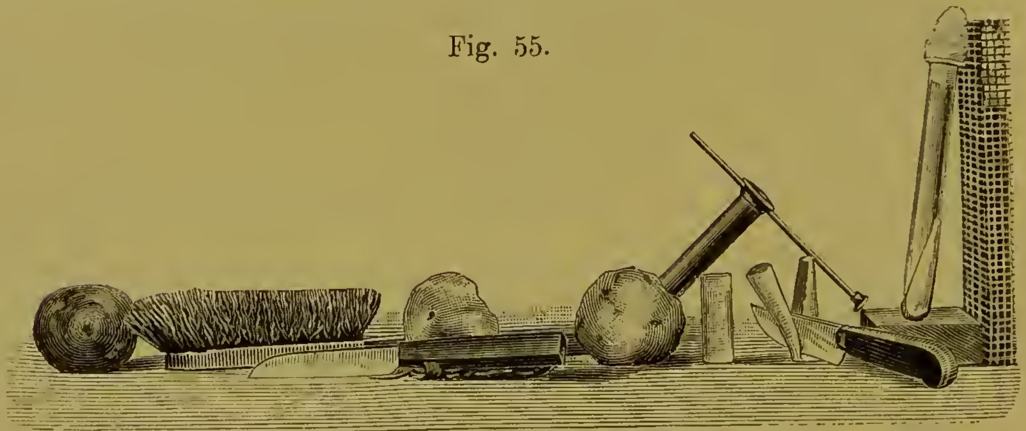
Ausstechung cylindrischer Stücke von 3—4 cm Länge und einer der lichten Weite des Reagensglases entsprechenden Dicke mit einem Korkbohrer.

Durchschneidung der Cylinder in der Diagonale.

Jede Hälfte in ein Reagensglas mit Watteverschluss.

Sterilisierung im Dampf ¾—1 Stunde.

Fig. 55.



Roux hat den Reagensgläsern am untern Ende eine Einkerbung geben lassen, auf welcher die Kartoffelstücke getrennt von etwaigem Kondenswasser ruhen. Das ist nicht nötig. Ein Stückchen Glasrohr, etwas Watte oder dgl. versieht denselben Zweck. Ich sah mich überhaupt noch nicht veranlasst, eine Einlage zu machen.

Kartoffeln reagieren gewöhnlich schwach sauer. Darauf wurden Misserfolge zurückgeführt, die man mitunter bei der Züchtung empfindlicher Bakterien, z. B. der Choleravibrionen hatte. Es scheinen jedoch mehr andre Ursachen dabei zu wirken; so fand Voges, dass die Kultur der Cholerabazillen auf Kartoffeln immer gelingt, wenn diese vorher in 3%iger Kochsalzlösung (C. 13. 543) gelegen haben.

Wie sehr sich die Unterschiede der einzelnen Kartoffeln im Wachstum der Bakterien bemerklich machen, sieht man u. a. an den Typhusbazillen, die durchaus nicht immer den als charakteristisch geltenden, kaum sichtbaren, feuchtglänzenden Rasen zeigen, sondern mitunter einen oft gelblich, selbst bräunlich ge-

färbten Ueberzug bilden. Von den Bakterien der blauen Milch habe ich bald eine tiefgrünblaue, bald eine graubraune Kultur auf Kartoffeln zu Gesicht bekommen (KA. 5. 525); die Beispiele liessen sich leicht mehren.

Tränkung mit Kochsalz-, Sodalösung u. s. w. lässt sich am einwandsfreiesten zustande bringen, wenn man die gekochten, geschälten und zerriebnen Kartoffeln in Kölbchen füllt und etwas Wasser zugibt, so dass ein dicker Brei entsteht.

Um die Eigentümlichkeiten, die Bakterien, speziell die Typhusbazillen, in ihrem Wachstum auf Kartoffeln zeigen, auf einem durchsichtigen Nährsubstrat zur Beobachtung zu bringen, hat Holz mit Hilfe des Saftes der Knollen eine Gelatinelösung dargestellt (Z. 8. 143). Vorschrift zur Bereitung der Kartoffelgelatine:

Reinigen, Schälen. Abwaschen der Kartoffeln.
Zerkleinerung auf einem Küchenreibeisen.
Pressen des Saftes und Breies durch ein Tuch.
24stündiges Stehenlassen des Saftes in verschlossner Flasche.
Filtrieren.
½stündige Erhitzung im Dampftopf.
Filtrieren.
10% Gelatine zusetzen.
¾stündige Erhitzung im Dampftopf.
Filtrieren.
Abfüllung in Reagensgläser. Sterilisierung an 3 Tagen.

Ist man in die Lage versetzt — und das wird bei anfallenden Untersuchungen auf Typhusbazillen leicht sich ereignen — rasch diesen für gewöhnlich nicht vorrätigen Nährboden zu bereiten, so wartet man nicht 24 Stunden, sondern setzt, wie Jäger (Z. 10. 211), Gelatine zum durchgepressten Saft, kocht und filtriert.

Würfel von Kartoffeln und Aepfeln (diese der Haltbarkeit wegen mit Schale) sterilisierte Plaut (C. 3. 100) zu 8 zusammen in einem Reagensglase, aus dem sie einzeln bei Gebrauch mit dem Platindraht angespiesst in je ein sterilisiertes Doppelschälchen oder Reagensglas übertragen wurden.

Um die Kartoffeln in durchscheinender Form zu verwenden, schnitt Wood aus recht weissen Kartoffeln feine Scheiben, drückte sie fest auf Glasstreifen, stellte diese in Reagensgläser und sterilisierte sie im Autoklaven (Hueppe, Meth. 272).

Statt der Kartoffel empfahl Král (Cr. 6. 252) als vorzüglichen Nährboden die scheibenförmig geschnittene Zuckerrübe.

G. de Lagerheim wandte statt Kartoffelstücke Maccaroni an, für deren Zubereitung er folgende Vorschrift (C. 11. 147) gab:

Weisse Maccaroni von 5 mm Durchmesser und 3 mm Kaliber werden in Stücke von 4,5 cm zerknickt und mit soviel Wasser in Reagensgläsern übergossen, dass es 1 cm über ihnen steht. Dann wird etwa ¼ Stunde gekocht, das Wasser abgegossen, die Reagiergläser mit Wattestopfen versehen und im Dampf völlig sterilisiert. Die also fertigen Maccaronistücke haben eine leicht gebogne Form bekommen, sind fast ganz weiss und zeigen eine mattglänzende, ebene Oberfläche. Besonders gut heben sich Kulturen von Farbstoffbildnern auf ihnen ab.

Dasselbe ist der Fall bei den noch leichter erhältlichen weissen Oblaten, die man nach Schill (C. 5. 340) in Doppelschälchen mit etwas Nährbouillon befeuchtet und sterilisiert.

Verschiedne andre Nährmittel.

Brotbrei. Trocknes schwarzes oder weisses Brot wird von der Rinde befreit auf dem Reibeisen zerrieben oder zermahlen.
Vom Pulver 25 g in Erlenmeyersche Kölbchen.
Zusatz von 15 ccm destillierten Wassers.
Im Dampf sterilisieren.

Gelatine- oder Agarlösung mit:
a) Pflaumen. 100 g entkernte, getrocknete Backpflaumen in 500 ccm Wasser 1/2 Stunde kochen, filtrieren, zum Filtrat Gelatine oder Agar, entsprechend lange erhitzen, filtrieren, abfüllen, sterilisieren.
b) Pferdemist. 3 Ballen in 500 ccm Wasser 1 1/2 Stunden kochen; filtrieren durch Barchent (Papier verstopft sich leicht). Im übrigen wie vorhin.

Die letztgenannten drei Nährmittel dienen besonders für die Kultur der Schimmelpilze, die auf sauren Medien besser gedeihen, als auf alkalischen. Selbstverständlich eignen sich auch Kartoffeln gut.

Aufgüsse von Weizen, Gerste, Roggen, Hafer, Erbsen, Linsen, Bohnen u. s. w., wie sie zu verschiednen Zwecken mit oder ohne Zusatz von Gelatine oder Agar verwendet werden, bereitet man mit Wasser im Verhältnis von 1 : 5. Sie bleiben erst 24 Stunden an kühlem Ort stehen, dann wird die überstehende Flüssigkeit filtriert, das Filtrat heiss neutralisiert und alkalisiert, 1—2 Stunden gekocht, filtriert, abgefüllt und sterilisiert.

Sollen derartige und andre Aufgüsse oder Abkochungen, auch der erwähnte Kartoffelsaft mit Gelatinezusatz zu einer Gallerte verarbeitet werden, ohne in ihren natürlichen Verhältnissen eine allzu grosse Beeinträchtigung zu erfahren, so muss ihre Reaktion die gleiche bleiben, wie sie vor dem Gelatinezusatz war, mit andern Worten, wir müssen soviel Natronlauge zugeben, als eben hinreicht, die in der Gelatine enthaltne Säure zu neutralisieren; dazu ist natürlich eine vorgängige Titrierung der gleichen Gelatinelösung in neutralem destillierten Wasser erforderlich.

Anwendung der Nährmittel zur Trennung und Weiterzüchtung von Kleinwesen.

Die vorhin beschriebnen Nährboden benützen wir einerseits zur Isolierung der Mikroorganismen, andrerseits zur Weiterzüchtung der danach erhaltnen Reinkulturen.

Solche lassen sich selbst auf Kartoffeln durch Ausstreichen eines Gemisches von Kleinwesen erzielen: ein geglühtes (altes) Skalpell verreibt eine kleine Menge des Gemisches auf der Oberfläche der ersten von mehreren halbierten Kartoffeln; mit demselben Skalpell bestreicht man — stets einen Randsaum von 1/2 cm etwa freilassend — der Reihe

nach eine zweite und dritte etc. Die Keime werden so immer dünner gesät und schon auf der vierten und fünften Kartoffel stehen nach erfolgter Entwicklung die Ansiedlungen derart vereinzelt, dass man eine oder die andre bequem mit dem spitzen Platindraht abnehmen kann. Namentlich Farbstoffbildner sind leicht zu erkennen. Allein nie ist man sicher, ob nicht unter oder dicht neben, selbst innerhalb der ins Auge gefassten Kolonie eine andre, kleine vorhanden ist, die sich der Betrachtung mit blossem Auge entzieht. Ein endgültiger Entscheid liesse sich da bloss durch das Mikroskop bringen. Indessen, so schwach auch das System zur Erkennung zu sein bräuchte, so scheitert doch jedes Bestreben einer einwandsfreien Isolierung an der Undurchsichtigkeit des Grundes.

Gerade in der Möglichkeit der Trennung unter gleichzeitiger mikroskopischer Kontrolle des isolierten Standes und der Reinheit der Kolonien liegt der Schwerpunkt und der grosse Vorteil des festen, durchsichtigen Nährbodens.

Im Reagensglas schräg erstarrt gewährt er bereits die Möglichkeit der Erreichung des Zieles. Wurde das Impfmaterial auf der Oberfläche schräg erstarrten Nähragars oder Blutserums der Reihe nach in 4—6 Reagensröhrchen ausgestrichen, so kann man schon nach wenig Tagen in der obern Hälfte, wo die Schicht dünner ist, das Aussehen der Kolonien unter dem Mikroskop mit Hilfe eines schwachen Trockensystems von weitem Fokalabstand studieren.

Weitaus besser aber eignen sich dazu Schälchen von etwa 8—10 cm Durchmesser, in die der Nähragar ausgegossen wurde (S. 103).

Zur Trennung aller Kleinwesen, die bei Zimmertemperatur und auf Nährgelatine fortkommen, gibt es nichts geeigneteres wie diese. Ausser durch ihre Klarheit und Durchsichtigkeit, worin sie kaum von einem andern Züchtungsmittel erreicht, sicher nicht übertroffen wird, zeichnet sie sich durch Verwendbarkeit aus, da sie gut an der Glasunterlage haftet, sich bei Wärmegraden (25—30°), die dem Leben der Bakterien nicht hinderlich sind, leicht verflüssigen lässt und schon bei 23—24° C. wieder starr wird, einer Temperatur, unter der die Mehrzahl der nicht pathogenen und selbst eine Reihe der krankheitserregenden Bakterien gut zu gedeihen in der Lage ist.

Nach Kochs Vorgang ziehen wir von diesem Umstand reichlichen Nutzen. Wir bringen das Impfmaterial zur Trennung verschiedenartiger Keime für gewöhnlich nicht strichförmig auf die Oberfläche, sondern vermischen und verteilen das Material recht sorgfältig und ausgiebig in dem verflüssigten Mittel und breiten es dann in dünner Schicht auf eine verhältnismässig grosse Fläche aus, wo die erstarrende Nährgelatine die Keime in der eben eingenommenen Lage fixiert und sie so an bestimmten Stellen und vereinzelt zur Entwicklung kommen lässt.

Das Plattenverfahren.

Gerätschaften (ausser den schon früher beschriebnen):

Glasplatten, 1 mm dick, von jedem Glaser leicht erhältlich. Die gebräuchliche Grösse von 8,5 × 13 oder 9 × 12 cm ist selbst bei einer Anzahl neuerer Mikroskope nicht brauchbar, weil der Objekttisch

nicht immer die erforderliche Grösse hat, um bis zur Mitte der Platte alle Punkte unter das Objektiv bringen zu können. Für schmälere Objekttische lässt man sich dann Platten von geringerm Breitendurchmesser schneiden, ihnen aber zum Ausgleich eine entsprechende Länge, etwa eine Grösse von 7 × 14 cm geben.

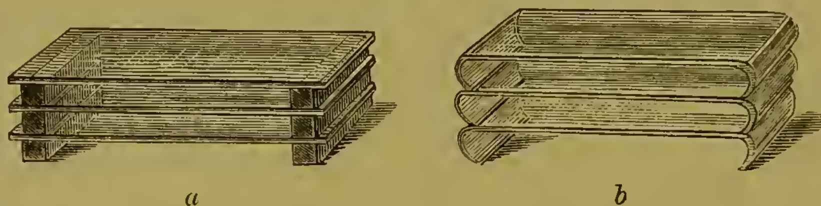
Fig. 56.



Büchsen (Taschen), von Eisenblech gefalzt und genietet, mit überfallendem Deckel versehen, so dass nirgendwo Staub einzudringen vermag, dienen zur Aufnahme der Platten während und nach der halbstündigen Erhitzung auf 160 ° im Trockenschrank. Ihre Ausmasse sollen denen der Platten möglichst angemessen sein, damit sie nicht zu viel Raum im Sterilisierungsapparat wegnehmen. Aus dem gleichen Grunde verzichtet man lieber auf die am Deckel meist angebrachte Handhabe (Fig. 56 und 66).

Glasbänke oder **Blechbänke** tragen die der feuchten Kammer übergebenen Platten. Von den teuern und dabei unpraktischen Bänken aus einem Stück Glas mit umgebognen Rändern der Schmalseite, wie sie Fig. 57b zeigt, sehe man ab und fertige sich lieber selbst welche aus Glasplatten von etwa 55 × 140 mm Grösse (Fig. 57a), unter deren

Fig. 57.



a *b*

beiden Schmalseiten 55 mm lange, 8 mm hohe und etwa ebenso breite Glasleisten (bei jedem Glaser zu bekommen) angesiegelt werden. Dazu wird die Glasplatte über der Flamme erwärmt, mit heissem Siegellack bestrichen und an die gleichfalls erwärmten Glasleisten gedrückt. Nach jedesmaligem Gebrauch werden diese Glasbänke zur Sterilisierung in 1—2 °/oo Sublimatlösung gelegt, ebenso kurz vor der Verwendung, und dann mit Wasser abgespült und getrocknet.

Fig. 58.



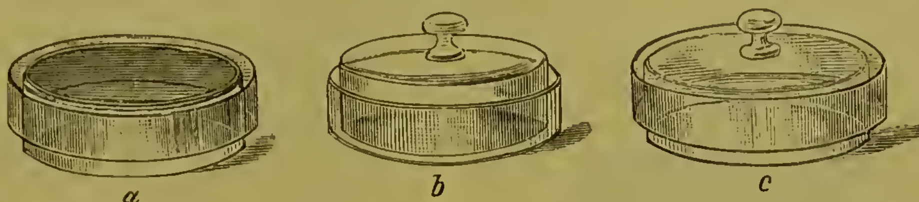
Blechbänke sind ihnen noch vorzuziehen, weil sie ausgekocht werden können. Die 55 × 130 × 8 mm grossen Bänke aus Eisen- oder Zinkblech, deren eine in seitlicher Ansicht in der Fig. 58 wiedergegeben ist, kann jeder Klempner schneiden und biegen.

Doppelschalen. Zweierlei Sorten sind nötig, grosse und kleine. Die grossen gehören zur Aufbewahrung der Kulturen auf Platten, es sind die sog. **feuchten Kammern** (Fig. 59). Von den drei verschiedenen Mustern sind die mit überfallendem Deckel (22 cm Durchmesser) vorzuziehen; im allgemeinen solche ohne Knopf, um mehrere aufeinander stellen zu können*); für manche Zwecke aber ist ein Knopf bequemer;

*) Zwischengelegtes Papier schützt sie vorm Verkritztwerden. Solche Kritzer machen sich namentlich bei den kleinen Doppelschalen, die unters Mikroskop kommen, unangenehm bemerklich.

bei Mehranschaffung nehme man auf etwa 5 Stück der ersteren Sorte eine mit Knopf. Die Luft in diesen Kammern ist durch Einlage von mit Wasser oder Sublimatlösung getränktem Fliesspapier bis nahe zu ihrem Taupunkt gebracht (Herrichtung S. 96 und 105).

Fig. 59.



Im Notfalle lassen sich die Doppelschalen durch zwei übereinander gestülpte Teller, von denen der untere mit angefeuchtetem Fliesspapier bekleidet ist, ersetzen. Bänke sind dann nicht nötig; aber zwischen jedem Tellerpaar hat nur eine Platte Platz.

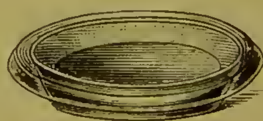
Die kleinern Doppelschalen von 8—10 cm Durchmesser, sog. **Kulturschalen**, werden von manchen überhaupt vor den Platten bevorzugt und statt dieser benützt, zur Ausbreitung der leicht von der Unterlage abgleitenden Agarmasse eignen sie sich fast ausschliesslich.

Diese Kulturschalen werden häufig als Petrische bezeichnet. Das ist nicht richtig. Denn abgesehen davon, dass Petri nicht der erste war, der sie angab, werden sie meist gar nicht mehr in der ursprünglich von ihm angewendeten Form gebraucht. Denn ihre Höhe von $1^1/_2$ cm erwies sich unpraktisch, da man, um sie allseitig unterm Mikroskop durchmustern zu können, die nach auswärts stehenden Systeme vom Revolverobjektivträger abschrauben musste und auch die Hantierung mit der Platinnadel unterm Mikroskop beeinträchtigt war.

Die Seitenwand der untern Schale soll keinesfalls höher als 1 cm, eher niedriger sein. Ihrer ausschliesslichen Verwendung steht der fünf- bis sechsmal höhere Preis gegenüber den Glasplatten im Wege, auch gehen sie beim Sterilisieren eher entzwei.

Besondre Vorsicht ist nötig, wenn sie mangels eines Trockenschrankes durch direkte Anhitzung keimfrei gemacht werden sollen. Sie werden mit einer Schmelztiegelzange gefasst, über die Flamme gehalten. Das Augenmerk ist dabei darauf zu richten, dass das Wasser, das sich als Verbrennungsprodukt an den noch kühlern Stellen, namentlich im Winkel ansetzt, zu verdunsten Gelegenheit hat; deshalb wird die Schale zeitweise der Einwirkung der Flamme entzogen. Ist sie ganz abgeglüht, so wird sie umgekehrt auf mehrfache Lagen Filtrierpapier (als schlechte Wärmeleiter) gelegt. Die Deckschale kommt zuerst an die Reihe. Sobald es die Temperatur gestattet, werden beide nach dem Erhitzen übereinander geschoben. Bei diesem Verfahren und bei Anwendung von Spiritusflamme entsteht leicht ein Anflug von Russ, der sich später mit dem eingegossnen Nährmittel vermischt oder auf der Oberfläche schwimmt, was zwar weiter nicht schadet, aber bei der mikroskopischen Betrachtung stört. Krönig zeigte gelegentlich des X. Kongresses für innere Medizin im Jahr 1891 nach seiner Angabe gefertigte, die unmittelbare Erhitzung in der Flamme vertragende Glasschalen (Fig. 60).

Fig. 60.

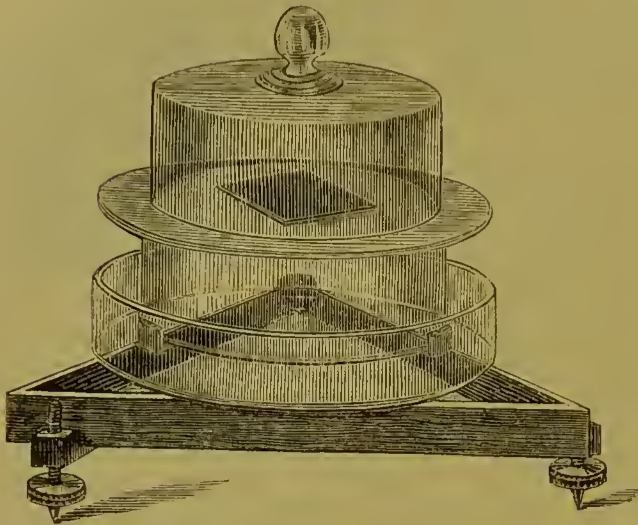


Bei Verwendung von Kulturschalen ist ein **Nivellier- und Kühl-**

apparat entbehrlich. Bei einfachen Glasplatten kommt man nur notdürftig ohne einen aus, wenn die Tischplatte möglichst wagrecht ist. Das Erstarren dauert aber im Sommer unliebsam lange.

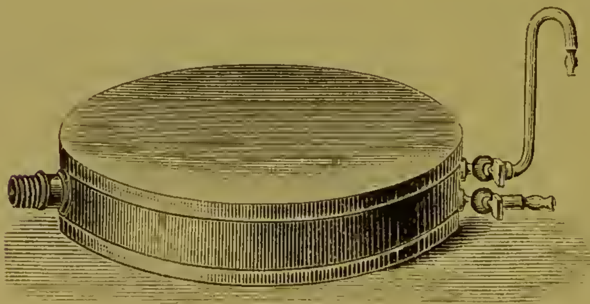
Der Apparat (Fig. 61) hat als Untergestell ein Dreieck von Holz oder Metall; darauf ruht eine grosse Schale (25 cm Durchmesser); in ihr steht, getragen von drei eingeschnittenen Korken oder einem Metallkreuz, wodurch eine direkte Berührung der beiden Boden verhindert ist, eine kleinere Schale von 20 cm Durchmesser, in die Eisstücke gelegt werden; man übergiesst sie mit frischem Wasser bis zum Ueberlaufen und schiebt (nicht deckt!) eine mattierte Glasplatte (23 cm Durchmesser) langsam darüber, so dass Luftblasen möglichst vermieden sind; für das überlaufende Wasser ist die untere Schale da. Jetzt setzt man eine **Dosenlibelle** mitten auf die Glasplatte und dreht die Stellschrauben am Holzdreieck, bis die Blase der Libelle genau in der Mitte einspielt. Nach der Horizontalstellung wird die Libelle beiseite gethan und eine Glasglocke mit Knopf (von 7 cm Höhe, 19 cm Durchmesser) aufgestellt. Sie dient später zum Schutz der Platten vor Luftverunreinigungen.

Fig. 61.



Heydenreich kühlt auch die Schalenkulturen. Er setzt sie zu diesem Zweck auf eine grosse, dicke Metallplatte, die in ähnlicher Weise ausnivelliert ist, und legt auf die Deckel der nebeneinander stehenden Schälchen eine Pfanne mit Eis, die etwas kleiner, wie die Metallplatte und 8—9 cm hoch ist, damit die Kälte von oben wirken kann (Zeitschr. f. wiss. Mikr. 9. 306).

Fig. 62.



Nicht immer und überall ist Eis zu haben. Deshalb hat A. Pfeiffer für Arbeitsstätten, die über Wasser von genügend tiefer Temperatur verfügen, einen flachen Kasten herstellen lassen. Ringsum geschlossen, 20 cm lang und 1½—2 cm hoch, trägt er an einer Ecke (besser wäre an zwei Stellen behufs etwaiger Durchströmung) eine mit Stutzen versehene Oeffnung zum Eingiessen kühlen (8—10°) oder für gewisse Zwecke (wie Agarplatten) warmen Wassers (D. 87. 914).

Vervollkommneter ist die Anordnung von Dahmen, bestehend aus einer Metalltrommel zum Auflegen der Platten, an deren senkrechter Seitenwand ein weiter Stutzen zum Einfüllen von Eisstückchen und gegenüber zwei engere, mit Rohr und Hahn versehene Oeffnungen zum Ein- und Auslauf des Wassers vorhanden sind (Fig. 62).

Rubner ersetzte die Eiskühlung durch die Wirkung des Aethersprays, dessen Nebel gegen die zum Auflegen der Platten dienende Decke eines aus starkem Kupferblech gefertigten Kästchens von unten her gerichtet war. Der überschüssige Aether floss durch eine Röhre aus dem Kupferhohlraum in ein Gefäss. Die ganze Vorrichtung stand auf einem kleinen Stativ mit Stellschrauben (A. 11. 367).

Nach ähnlichem Prinzip hat Marpmann einen Aetherspray mit einer Klemme ausgestattet, die die zu kühlende Glasplatte über den Ausführungsgang des Zerstäubers hält (von Miehe-Hildesheim geliefert und an dessen Mikrotomgefrierapparat anzubringen; C. 10. 458).

Es ist übrigens ein Leichtes, selbst eine genügend grosse Glasplatte derart auf Füsse zu stellen, dass darunter der Aetherspray des Mikrotoms zur Wirkung kommen kann. In jedem Falle ist Vorsicht wegen Feuersgefahr geboten und eine derartige Hantierung nicht in der Nähe einer Flamme vorzunehmen!

Die sonstigen zum Plattenverfahren nötigen Gebrauchsgegenstände sind unter den schon früher beschriebnen enthalten.

Es erübrigt nur noch, die Faberstifte zum Schreiben auf Glas und Porzellan (blau, gelb oder rot) zu erwähnen, die bei Laboratoriumarbeiten gute Dienste leisten.

Anlegung von Gelatineplatten.

Zur Isolierung einzelner Keime aus einem Bakteriengemisch vermengt man eine kleine Menge davon in einem Röhrchen mit verflüssigter Nährgelatine, überträgt daraus einige Tropfen in ein zweites, von diesem abermals mehrere Tropfen in ein drittes Röhrchen, schüttet den Inhalt auf drei Platten und breitet so die Nährmittel zu einer dünnen, flachen und genügend grossen Schichte aus, um mit zunehmender Verdünnung eine immer weitergehende Auseinanderlagerung und Trennung der Keime zu erzielen.

In der Ausführung gestaltet sich diese Kochsche Methode wie folgt:

Füllung und Horizontalstellung des Plattengiessapparates (s. S. 104).

Verflüssigung der Gelatine in drei Röhrchen im warmen Wasser (30—40 °).

Herrichtung der feuchten Kammer. Boden und Deckel der Doppelschale werden mit passenden Scheiben von Filtrierpapier belegt und aus letzterer ein rundes Fenster geschnitten. In eine der Schalen werden drei Glasbänke gelegt, mit Sublimatlösung (1 ‰) übergossen und so geschwenkt, dass das Desinfektionsmittel auch die Wandungen der Schale bespült; es wird hierauf in die andre Schale entleert, damit die Spülung in gleicher Weise vorgenommen und weggeschüttet. Jetzt nimmt man die Bänke heraus, kehrt die beiden Schalen um und wischt die letzten Tropfen an ihren senkrechten Wänden mit einem Tuch ab. Auch die Glasbänke werden, nachdem die Sublimatlösung mit Wasser abgespült ist, abgewischt und ganz trocken gemacht.

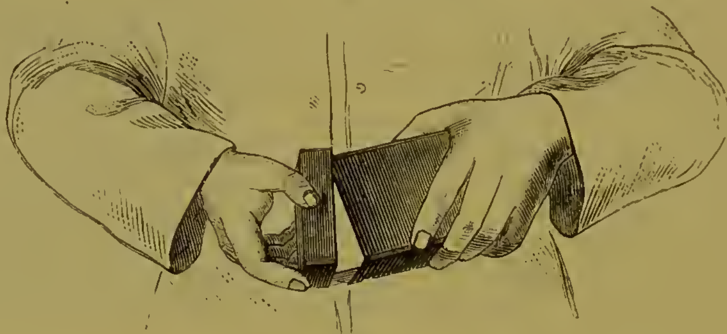
Die drei Glasbänke werden demnächst mit Papierstreifen belegt, worauf verzeichnet ist: Impfmaterial, Verdünnung I, II, III und

Datum. Dann werden sie in der feuchten Kammer übereinandergestellt, Nr. 1 zu unterst.

Vorsichtige Herausnahme von drei Glasplatten aus der gefüllten, bei 160 ° im Trockenschrank ½ Stunde sterilisierten Blechtasche und Uebertragung auf den Kühlapparat unter die Glasglocke.

Beim Oeffnen wird die Kapsel leicht schräg abwärts gehalten, bis die Glasplatten etwas heraussehen, sie werden, mit dem Deckel gegengehalten, am Herausfallen verhindert (Fig. 63). Die Finger dürfen die in der Tasche bleibenden Platten keinesfalls berühren; nur Daumen und Zeigefinger fassen die weitest vorgerückten

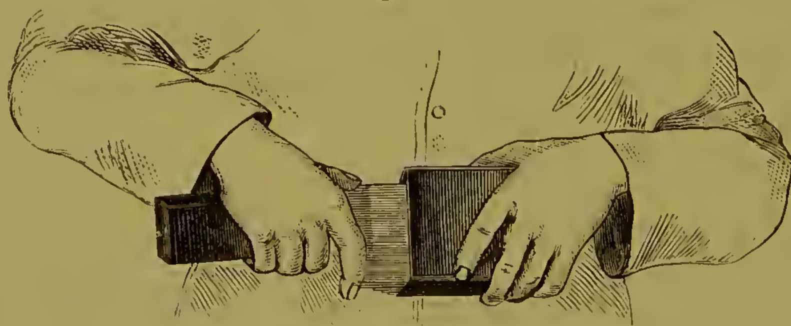
Fig. 63.



drei obern Platten an den Kanten und ziehen sie heraus. Der von der Blechbüchse genommene Deckel wird dabei mit den drei letzten Fingern in der Hohlhand (Fig. 64) oder am Bügel, wenn er vorhanden, gefasst.

Dann kommt er wieder auf die Büchse. Die drei Platten werden auf die gekühlte Scheibe unter die Glasglocke gelegt.

Fig. 64.



Impfung des ersten Gelatineröhrchens. Es wird zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand, deren Fläche nach oben sieht, gelegt, der Wattepfropf herausgedreht und zwischen 3. und 4. Finger derselben Hand gegeben, derart, dass er nach unten sieht und der im Glas gewesene Teil nicht mit der Haut in Berührung kommt (ähnlich wie bei der II. Verdünnung beschrieben; Fig. 65).

Eintragung des Impfmaterials mit Platindraht oder -Oese.

Gleichmässige Vermischung mit der verflüssigten Gelatine.

Dünnflüssiges Material wird mit der Oese an die Innenwand des Reagensglases gegeben.

Etwas zähflüssigere oder schleimige Massen werden an der Innenwand erst ausgestrichen, fein verteilt und allmählich in die Gelatine gespült.

Körperliche, weiche Bestandteile, Organe u. dgl. müssen mit sterilisierten

Instrumenten zerstückelt werden: nur ein sehr kleines Teilchen wird eingetragen und an der Reagensglaswand durch Drücken mit einem stärkern Platindraht, so gut es geht, ausgequetscht.

Feste, harte Dinge werden zunächst zwischen sterilisierten Skalpellen, Glasplatten u. dgl. zerdrückt, die einzelnen Stückchen mit geglühtem Platindraht oder -Oese eingetragen und gleichmässig in der Gelatine verteilt.

Aufsetzen des Wattepfropfens.

Oftmaliges (30—100mal) sanftes Neigen unter gleichzeitigen drehenden Bewegungen des Reagensröhrchens mit der Vorsicht, dass weder reichliche Luftblasen in der Gelatine entstehen, noch der Wattepfropfen mit ihr in Berührung tritt. Auch soll der obere Rand des Röhrchens aussen möglichst unberührt bleiben.

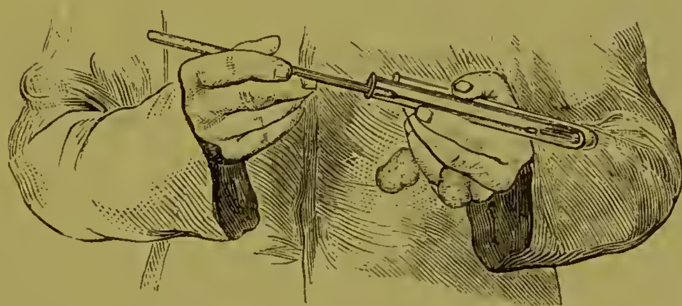
Bezeichnung des Glases mit I mittels Glasstift.

Ist man sicher, dass die Mischung im Glas I recht gründlich erfolgte, so schreitet man zur

Anlegung der II. Verdünnung.

Die beiden Reagensgläser — Nr. I und ein neues — werden zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand, deren Fläche nach oben sieht, so gelegt, dass sich die Wattestopfen über der Mitte der Hohlhand befinden.

Fig. 65.



Ausglühen der Platinöse*).

Abnahme der Wattestopfen; der Stopfen von Glas I kommt zwischen 3. und 4., der des neuen Glases zwischen 4. und 5. Finger, wie oben beschrieben (Fig. 65).

Flüchtiges Absengen der am Rande der Röhrchen etwa hängen gebliebenen Wattefäserchen in der Flamme (die Gläser bleiben dabei in ihrer Lage).

Aus Glas Nr. I werden zwei oder drei Platinösen entnommen (je nach der Menge der zu erwartenden Keime, über die man sich schon vorher durch ein mikroskopisches gefärbtes Präparat Aufschluss zu verschaffen gesucht hat).

Sofortige Uebertragung ins neue Glas. Durch sanftes Betupfen der Glaswand wird die Oese jedesmal ihres gesamten Inhalts entledigt und zum Schluss in der verflüssigten Gelatine durch wiederholtes Eintauchen abgespült; nochmals an der Glaswand abgetupft und völlig leer herausgezogen, dann aber alsbald ausgeglüht beiseite gestellt.

*) Ein Bunsenbrenner mit Sparflamme (Fig. 7e S. 16) ist bei der Ausführung der Plattenmethode vorteilhaft.

Aufsetzen der Wattepfropfen auf die beiden zugehörigen Röhrchen.

Gründliche Mischung der an der Wand haftenden Tröpfchen mit der Gelatine durch häufiges Neigen und Drehen, wie das erste Mal.

Bezeichnung des Glases mit Nr. II.

In derselben Weise wird die III. Verdünnung aus dem II. Glas angelegt, nur mit doppelt soviel Platinösen, wie von I in II, also mit vier oder sechs Platinösen.

Bloss bei sehr keimreichem Ausgangsmaterial kann eine IV. Verdünnung angezeigt erscheinen.

Abglühen der Wattepfropfen sämtlicher geimpfter Reagensröhrchen in der Flamme.

An jedem wird der Wattepfropf angebrannt, mit einer abgeglühten Pinzette etwa ½ cm tief hineingeschoben und dann der Rand des Röhrchens mit etwa 10—15 rollenden Bewegungen in der Flamme erhitzt.

Aufstellung der Gläser in einem Gestell, so dass ihr erhitzter Rand mit keinem Gegenstande mehr in Berührung kommen kann.

Das Giessen. Glas I wird, ohne den obern Rand zu berühren, genommen, unten mit einem Tuch von etwa noch anhaftendem Wasser befreit (was namentlich nötig ist, wenn die unterdessen vielleicht starr gewordene Gelatine im Wasserbade nochmals verflüssigt werden musste), dann noch ein paarmal behufs Mischung geneigt, der Wattepfropf mit geglühter Pinzette erfasst, unter drehender Bewegung herausgezogen und sofort in einen bereitstehenden Topf mit Wasser geworfen (anders wenn Keimzählung gemacht werden soll; s. beim Wasser).

Der Rand des stets schräg gehaltnen Röhrchens wird nochmals flüchtig in der Flamme abgesengt.

Die linke Hand fasst die Glasglocke des Giessapparates am Knopf, klappt sie auf einer Seite nur auf, die rechte führt das Reagensglas unter die Glocke und schüttet den Inhalt auf die Platte (Fig. 66).

Zunächst sachte in die Mitte, dann taucht der vom Abglühen her noch sterile Rand des Röhrchens ein und verteilt die Gelatine zu einem Rechteck so auf der Platte, dass sie sich allseitig etwa 1 cm vom Rand entfernt hält.

Manchmal sind die Platten nicht vollständig eben; dann gleiten sie aufeinander herum; in solchem Falle muss die Glasglocke beiseite gestellt werden, damit zwei Finger der linken Hand die Platte während des Ausgiessens am Rande festhalten. Wenn auch die Glocke alsbald wieder darüber kommt, so ist doch die Möglichkeit gegeben gewesen, dass sich mehrere Luftkeime auf die Gelatine niedergesenkt haben. Doch bringt das meist keinen Nachteil für die Beurteilung des Ergebnisses.

Das leere Reagensglas wird sofort dem bereitstehenden Topf mit Wasser zum späteren Auskochen übergeben (ausgenommen bei beabsichtigten Keimzählungen).

Während man das Starrwerden der Gelatine abwartet, bringt man die feuchte Kammer nahe an den Giessapparat heran und nimmt die zwei obern Bänke heraus. Die Bank mit Zettel I bleibt darin.

Ist man nicht sicher, ob unterdessen die Gelatine erstarrt ist, so darf man die Glocke etwas lüften und mit einer ausgeglühten und wieder erkalteten Platinöse prüfend betasten; diese wird sogleich wieder sterilisiert.

Ist es der Fall, so überträgt man rasch, aber ruhig die Gelatineplatte vom Giessapparat in die feuchte Kammer.

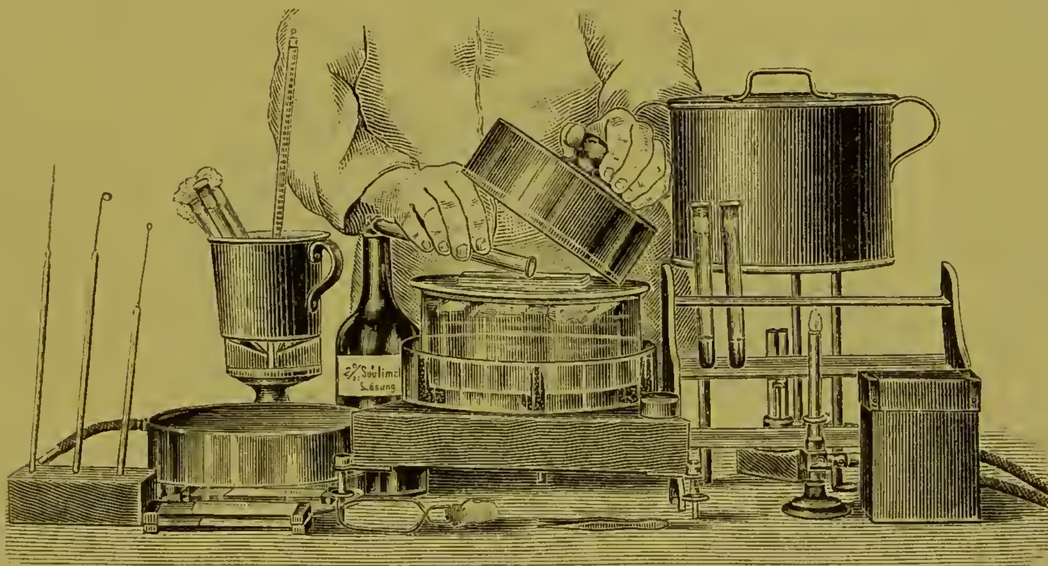
Vor Auflegen des Deckels setzt man schnell noch die nächste Glasbank vorbereitend für Nr. II darüber.

In der gleichen Weise wird die II. und III. Verdünnung ausgegossen und versorgt.

Sind alle Platten in der feuchten Kammer untergebracht, so wird sie an einen dunkeln Ort, dessen Temperatur zwischen 16—22° C. schwanken darf, gestellt. Wollen wir recht gleichmässige Wärme haben, so heizen wir einen Brutschrank auf 20—22° mit 1 oder 2 Nachtlichtern, nicht mit Gas, um nicht durch unvorhergesehene Steigung infolge erhöhten Gasdruckes zu hohe Temperatur zu bekommen; denn selbstthätig wirkende zuverlässige Thermoregulatoren gibt es für diese Wärmegrade kaum.

Die in den Topf mit Wasser gelegten Wattestopfen und Reagensgläser werden ausgekocht.

Fig. 66.



Das Plattengiessen.

Auf der durch Eisstücke gekühlten Glasscheibe liegen drei Platten, deren obere mit geimpfter Nährgelatine begossen wird. Auf dem Holzdreieck steht noch die zur Nivellierung der Scheibe benützte Dosenlibelle. Vorn liegt eine Pinzette zum Hineinschieben der Wattepfropfen und eine Cornetsche hält einen herausgezogenen (wie es bei der Aussaat zwecks Keimzählung üblich). Rechts stehen die demnächst auszugiessenden zwei Röhrchen mit der Verdünnung II und III, eine Gasflamme zum Abglühen des Wattestopfen, eine Büchse mit sterilen Glasplatten und ein Kochtopf. Links noch einige nicht geimpfte zum Vorrat in warmem Wasser erweichte Gelatineportionen, eine Flasche mit 2‰iger Sublimatlösung zur Ausspülung der „feuchten Kammer", in der bereits die erste Glasbank mit Aufschriftzettel zur Aufnahme der ersten Platte steht, während sich die beiden andern noch ausserhalb befinden. Platinnadeln bilden den Abschluss.

Wie lange sollen die Kulturplatten mit Gelatine in der feuchten Kammer bleiben, bis sie untersucht werden dürfen?

Das richtet sich nach den Verhältnissen. Wo möglich ohne den Deckel zu lüften, sehen wir täglich von oben und von der Seite hinein, ob mit blossem Auge bereits eine Entwicklung wahrzunehmen ist oder gar verflüssigende Kolonien sich schon breit zu machen beginnen. In diesem Falle säume man nicht, die Untersuchung in der später (S. 184) verzeichneten Weise vorzunehmen.

Demnächst ist der Zweck, den man verfolgt, massgebend. Wird nach rasch wachsenden, pathogenen Bakterien, z. B. Choleravibrionen,

gefahndet, so besichtigt man die Platte schon nach 12—24 Stunden und legt sie unters Mikroskop (40—100fache Vergrösserung). Die langsamer gedeihenden Typhusbazillen lassen um diese Zeit noch keine genügende Entwicklung erkennen. Drohen nicht gerade verflüssigende Kolonien, so wartet man wenigstens noch bis zum 2. Tag. Abgesehen aber von besondern Fällen setzen wir gewöhnlich den 3. bis 4. Tag als Frist fest mit Berücksichtigung der Temperaturverhältnisse. Im Sommer ist man nicht selten genötigt, Gelatineplatten u. a. Kulturen im kühleren Keller aufzubewahren.

Abänderungen beim Gelatineplattenverfahren.

Mangels einer Nivelliervorrichtung hat man, um das Ablaufen der Gelatine zu verhindern, Platten mit einem in der Muffel aufgeschmolzenen Randstreifen versehen oder mit einer zweiten Platte verbunden, die in der Mitte einen grossen runden Ausschnitt trägt, oder es wurde 1 cm vom Rand entfernt ein etwa 1—1½ mm hoher Emailstreifen eingebrannt, oder noch einfacher, dieser Streifen mittels Paraffin frisch gemacht.

Für Expeditionen sind Platten mit Emailstreifen von Vorteil, weil in der Fremde oft keine geeigneten Nivellier- und Kühlvorrichtungen zu haben und eine grössere Anzahl Schalen schwer zu verpacken sind. Die wenigen mitgenommenen Schalen sollen nach Art der Glasdosen angefertigt sein, bei denen der Deckel nicht über die Wand der untern Schale vorsteht; dann kann noch des bessern Zusammenhaltens wegen ein Gummiband herumgelegt werden. Das ist z. B. in der Ausrüstung des Cholerakastens, wie er bei der Armee eingeführt ist, der Fall (Fig. 135).

Schalen dienen auch im Laboratorium selbst vielfach als Ersatz der Platten, weil sie einfacher zu beschicken sind. Aber die weitere Handhabung, ihre Besichtigung unterm Mikroskop und die Abimpfung von ihnen ist nicht einfacher, und ich meinesteils bleibe, besondre Fälle ausgenommen, soweit es sich um Gelatinekulturen handelt, lieber bei den Platten.

Platten haben freilich den Nachteil (noch mehr wie Schalen), dass sie sich nur begrenzte Zeit aufbewahren lassen; denn waren sie einmal zur Mikroskopierung ausserhalb der feuchten Kammer, so sind viele Keime aus der Luft auf sie gefallen, die eine weitere Beobachtung beeinträchtigen und selbst hindern.

Wenn es sich um eine lang dauernde Beobachtungszeit, wie sie langsam wachsende Bakterien oder besondre Untersuchungen erheischen, handelt, wobei jede nachträgliche Verunreinigung ausgeschlossen sein soll, dann greifen wir immer zu den **Rollplatten**, deren Angabe von E. v. Esmarch herrührt (Z. 1. 293). Ihre Anlegung ist bis auf das Ausgiessen mit dem gewöhnlichen Plattenverfahren übereinstimmend, nur bevorzugen wir etwas weitere Gläser.

Sind Einsaat und allenfallsige Verdünnungen gemacht, so wird der Wattepfropf, soweit er herausragt, mit der Schere abgeschnitten und eine wohl schliessende Gummikappe über den Rest, der im Röhrchen steckt, gezogen.

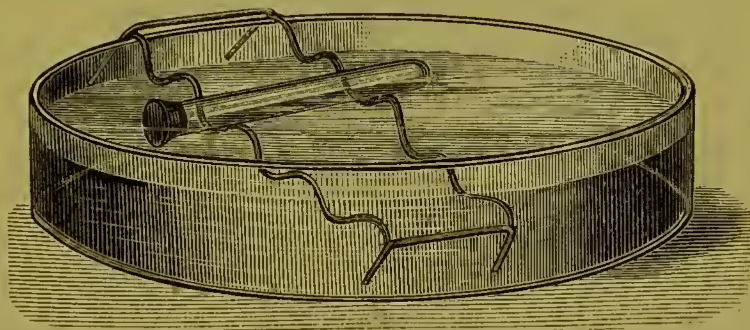
Dann neigt man das Reagensglas mehrmals und dreht es dazwischen so, dass die flüssige Gelatine bis zu einer Nähe von 2—5 mm gegen den Wattepfropf zu die ganze Innenfläche nach und nach bespült hat. Diese vorbereitende Massnahme bezweckt, dass beim spätern schnelleren Ausrollen der Gelatine Weg und Grenze vorgezeichnet sind.

Nun kühlen wir erst den Inhalt etwas unter der Wasserleitung, bis baldige Erstarrung zu erwarten ist, jedoch noch nicht bis zur Zähflüssigkeit.

Hat das Wasser die nötige tiefe Temperatur (8—12° C.), dann gelingt die Vollendung der Prozedur unter der Leitung.

Drei Finger der einen Hand fixieren — abwechselnd an verschiednen Stellen, damit die Körperwärme nicht hinderlich wirkt — die untere Hälfte des Röhrchens, die andre Hand fasst oben an den Rand, hält das Röhrchen beinahe horizontal und dreht nun rasch und gleichmässig, bis die Gelatine als glatte dünne Schichte die Innenwand des Reagensglases überzogen hat. Sollte die Schicht aber buckelig ausgefallen sein, so verflüssigt man lieber nochmals im warmen Wasser und rollt wiederholt aus.

Fig. 67.



Ist das Wasser nicht kühl genug, dann brauchen wir Eiswasser in einer Schale. Beim Hineinhalten des Röhrchens ist es schwer, eine Benetzung des innern Endes des Wattepfropfens mit Gelatine zu vermeiden.

v. Esmarch legt (Fig. 67) ein Drahtgestell für Federhalter, wie es in vielen Schreibwarenhandlungen erhältlich, hinein und sorgt dafür, dass das Reagensglas eben zur Hälfte mit seiner Längsseite eintaucht (H. 2. 660).

Prausnitz nimmt einen mit kühlem Wasser gefüllten Blechkasten von 23 × 19 × 10 (hoch) cm (Fig. 68). In der Mitte der beiden Schmalseiten ist am obern Rande eine kleine Vertiefung angebracht, in die die Achse einer Rolle zu liegen kommt. An der Achse sind, 14 cm voneinander entfernt, 2 runde Blechscheiben befestigt, in deren Peripherie 10 runde Löcher eingeschnitten sind, für die zu ¼ ihrer Höhe mit Gelatine gefüllten und geimpften Röhrchen. Drehung der Kurbel bewirkt eine gleichmässige Verteilung der Gelatine an der Wand (C. 9. 130).

Durch die Abkühlung erfolgt eine Verdünnung der Luft im Reagensglas, die sich durch Einziehung des Gummihütchens bemerklich macht. Sass dieses nicht stramm, so können Wassertropfen ins Glas gesogen werden, die die ganze Probe verderben.

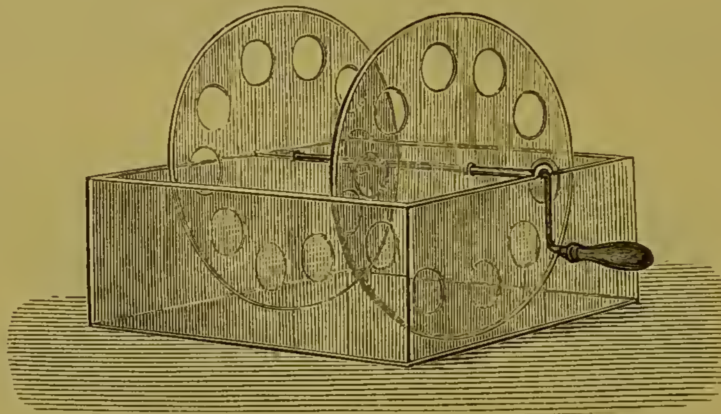
Ist die Rollplatte fertig, so kommt die Gummikappe weg.

Hatte die Gelatine den Wattestopfen benetzt, so ist diese geringe Menge für die Beobachtung verloren; sind aber keine Zählungen beabsichtigt, so schadet das in der Regel nicht. Man thut gut, den Wattestopfen zu lüften, wodurch die Schicht meist zerrissen wird; wenn nicht, durchstösst man sie mit dem geglühten Platindraht, damit die Kultur nicht unter Sauerstoffmangel leide.

Rollplatten sind kaum zu gebrauchen, wenn Gelatine verflüssigende Keime im Aussaatmaterial zugegen waren. Denn die in der Folge ablaufenden Kolonien verderben den übrigen Inhalt ganz oder zum grossen Teil.

Sie werden, wie alle Kulturen, an dunkelm Ort von nicht über 22° C. aufbewahrt. Sie dürfen fernerhin bloss am obern Rande in der Gegend, wo der Wattepfropfen sitzt, angefasst werden.

Fig. 68.



Jederzeit kann ohne Nachteil die Besichtigung vorgenommen werden. Die Mikroskopierung geschieht mit schwachem System. Leider gestattet die Konstruktion der Tubusträger an manchen Instrumenten (z. B. den Seibertschen) nicht, den Tubus hoch genug zu heben, um die Objektive mit grösserm Fokalabstand zum Gebrauch bei weiten Reagensröhrchen verwenden zu können. In ihrer Lage werden sie durch zwei Bleiklötzchen gehalten. Geeignet ist der Reagensglashalter nach v. Sehlen.

Unter Umständen fällt Zeit und Aufwand von Nährmaterial beim Plattenverfahren ins Gewicht. Soyka nahm deshalb flache Doppelschälchen, deren unteres eine Anzahl (7 und mehr) Ausschliffe trug; diese wurden mit Gelatinetropfen gefüllt und der Reihe nach vom ersten infiziert. Aber diese Ausschliffe sind so flach, dass sie keinen Vorteil bringen. Ich habe dieses Verfahren mit Erfolg auf einfachen Glasplatten ausgeführt (C. 12. 358).

Nicht sowohl wegen der Gelatineersparnis, als insbesondre wegen seiner ausserordentlichen Einfachheit und der schnellen Ausführbarkeit verdient es weit grössere Beachtung, als ihm bisher zu teil geworden.

Anstatt nämlich das zu untersuchende Material in ein Röhrchen mit Gelatine zu bringen, davon 2 andre zu infizieren und 3 Platten zu giessen, wird hier nur 1 Platte verwendet, mit 6 etwa zehnpfennig-

stückgrossen **„Gelatinescheiben"** versehen, das Impfmaterial zunächst mit der ersten verrieben und von ihr aus die übrigen infiziert. Aus einem etwa 7 ccm Nährgelatine enthaltenden Glase können wenigstens 18 solcher Scheiben auf 3 Platten hergestellt werden. Mit einem einzigen Röhrchen bin ich demnach imstande, mindestens dreierlei Proben auf die in ihnen enthaltnen Keime kulturell zu untersuchen, wozu sonst 9 Röhrchen und ebensoviele Platten, sowie ein Zeitaufwand von 1 1/4 Stunden nötig wäre, während ich hier nur 15—20 Minuten brauche.

Die Gelatinescheiben sind allerdings nicht gross. Wenn es auf die Isolierung von voraussichtlich recht vereinzelt im Ausgangsmaterial vorhandnen Bakterien in einem Gemisch mit andern ankommt, so ist die Wahrscheinlichkeit, solche spärliche Keime zu finden, geringer. In derartigen Fällen werden wir das Kochsche Plattenverfahren niemals aufgeben.

Aber wenn wir bei der Untersuchung gefunden haben, dass die zu trennenden Bakterien in grösserer Anzahl vorhanden, kaum mit andern Arten vergesellschaftet sind, so werden uns auch die kleinen Gelatinescheiben, und zwar in viel bequemerer Weise, zum Ziele führen. Vornehmlich verwende ich sie, wenn ich eine Kultur auf ihre Reinheit prüfen, oder wenn ich das Wachstum einer ins Auge gefassten, bereits isolierten Art auf Gelatineplatten einem genauern Studium unterziehen will. Gewöhnlich lasse ich auch, wenn Eile nicht geboten, mehrere solcher Objekte zusammenkommen, weil es nicht viel mehr Aufwand an Zeit und Mühe erfordert, ob ich eine oder mehrere Proben zur Aussaat bringe.

Statt eine unmittelbare Uebertragung auf die erste Gelatinescheibe zu machen, impfe ich dann gerne zunächst in ein Gläschen mit Bouillon zur ersten Verdünnung und benütze diese Gelegenheit, um gleichzeitig das Wachstum im flüssigen Nährmittel beobachten zu können. Dieses Bouillongläschen kommt dann in den Brutschrank.

Die Beschickung der Platten mit Gelatinescheiben, die Verteilung des Impfstoffes und der Wechsel der Platten lassen sich, wenn man nicht eine Hilfsperson oder eine Vorrichtung hat, die die — womöglich mit einem Knopf versehene — Deckschale schützend darüber hält, nicht anders als unter freiem Luftzutritt vornehmen. Es hat sich mir aber herausgestellt, dass die Verunreinigungen lange nicht so häufig sind, als man sie nach den bei den Kochschen Platten gemachten Erfahrungen vermuten sollte. Die Wahrscheinlichkeit, dass Stäubchen mit anhaftenden Keimen oder Schimmelpilzsporen auf die Gelatine fallen, ist eben im Verhältnis um so geringer, als die Fläche kleiner ist, die die sechs Gelatinescheiben einnehmen, gegenüber der Ausbreitung der ganzen Gelatinemenge eines Reagensröhrchens auf der Platte. Ausserdem ist immer nur die oberste Platte den Verunreinigungen aus der Luft preisgegeben, während die darunterliegenden eben durch sie geschützt sind.

Die Platte, die mit den Gelatinescheiben versehen und geimpft werden soll, und sei es auch nur eine, bringe ich durch Unterstellung einer Anzahl von Glasbänken so hoch herauf, dass sie nicht viel unter den Deckel der feuchten Kammer, der in diesem Falle nicht mit Fliesspapier bekleidet ist, zu liegen kommt. Es geschieht das im Interesse des leichtern Arbeitens, da man an die tief unten in der Schale

liegende Platte mit der impfenden Platinöse nur schwer zukommen kann. In der Abbildung habe ich die Platte neben die feuchte Kammer gestellt, um die Anlage deutlicher zu machen. (Auf dem Deckel befindet sich das Röhrchen mit dem Ausgangsmaterial, das Gläschen mit Bouillon für die erste Verdünnung und der von der Klemmpinzette gehaltne Wattepfropf des Gelatineröhrchens.)

Schälchen eignen sich für Gelatinescheiben lange nicht so gut, wie Platten. Denn ihre Grundfläche ist kleiner, und, was die Hauptsache, niemals so eben, sondern meistens leicht gewellt, wodurch ein Zusammenfliessen der Scheiben kaum zu vermeiden ist. Hat man erst einige Uebung erlangt, so ereignet sich das auf der Platte nur selten. Selbst ein Nivellierapparat ist entbehrlich*), wenn die Tischplatte annähernd wagrecht steht, eine Kühlung sogar unpraktisch, weil die Gelatinescheiben flüssig bleiben sollen, bis alle Platten geimpft sind. Man muss sogar manchmal noch nachhelfen und die vorher gegossnen, zuletzt zu impfenden Platten leicht anwärmen.

In der nachfolgenden Beschreibung des Verfahrens, wie ich es übe, nehme ich an, es sollen drei Proben untersucht werden (Fig. 69).

Herrichtung einer feuchten Kammer (S. 105, ohne Bekleidung der Deckschale).

Einbringung von 5—6 Glasbänkchen.

Ein Röhrchen mit Gelatine wird ins warme Wasser (30—40 °) gestellt.

Drei Zettel mit Aufschrift des Ausgangsmaterials und des Datums werden auf die obern drei Bänke gelegt.

Darauf ebensoviele sterilisierte Glasplatten.

Aufsetzen der Deckschale (mit Knopf).

Herausnahme des Gelatineröhrchens und Abwischen des anhängenden Wassers mit einem Tuch.

Herausdrehen des Wattepfropfens mit einer Klemmpinzette oder einer Cornetschen Pinzette.

Beiseitelegen der Pinzette, so dass der Wattepfropfen die Unterlage nicht berührt.

Abglühen des Randes des Gelatineröhrchens durch mehrmaliges Drehen in der Flamme.

Abnahme des Deckels von der Schale.

Ausglühen eines stärkern Platindrahtes.

Der Platindraht wird möglichst steil gegen die oberste Platte gehalten, der Rand des Gelatineröhrchens angelegt. Nun lässt man längs des Drahtes etwa 3—5 Tropfen verflüssigter Gelatine links oben auf die Platte fliessen, so dass die entstehende Scheibe etwa die Grösse eines Zehnpfennigstückes erreicht.

Solcher Gelatinescheiben werden in geeigneten Abständen noch weitere fünf angelegt**).

---

*) Wird er angewendet, so setzt man die Dosenlibelle auf das oberste der Bänkchen, die die Platten tragen.

**) Statt am Platindraht entlang zu giessen, kann man die Gelatine mit sterilisiertem Glasrohr in Form der Wasserpipetten (Fig. 134) aus dem Röhrchen nehmen und in Scheiben auf der Platte verteilen. Dazu macht man mit je

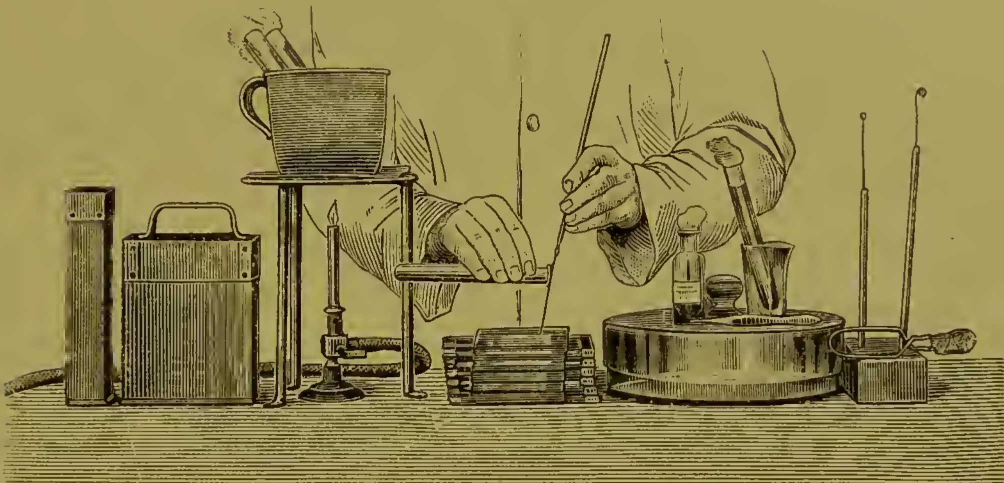
Die linke Hand fasst die oberste Bank, die rechte die darunter befindlichen.

Die oberste Platte kommt so an die unterste Stelle.

In derselben Weise werden auf die folgenden Platten je sechs Gelatinescheiben gegeben.

Bleibt danach im Reagensglas noch ein Rest, so wird es mit dem vorher oberflächlich abgesengten Wattepfropf verschlossen für weitere Verwendung aufbewahrt.

Fig. 69.



Folgt die Impfung.

Eine ausgeglühte und wieder erkaltete kleine Platinöse wird in die zu untersuchende Flüssigkeit, oder die Spitze eines Platindrahtes in den Kulturrasen getaucht. (In der Figur steht ein Kulturröhrchen und ein Gläschen mit Bouillon auf dem Deckel der feuchten Kammer.)

Das Impfmaterial kommt dicht neben die erste Scheibe und wird mit einer Kleinigkeit der noch gut flüssigen Gelatine recht gleichmässig verrieben.

Die Platinöse (die jetzt an die Stelle des Drahtes treten kann) geht von dieser Stelle aus und beschreibt in der Gelatinescheibe kreisförmige nach dem Mittelpunkt hin führende Züge. Dabei wird die Scheibe etwas grösser; aber sie darf nicht zu dünn geraten, sonst leidet das Bakterienwachstum durch Eintrocknung.

Der danach in der Oese bleibende Tropfen wird dicht neben die nächste Gelatinescheibe gelegt. Dann verrieben und verteilt wie vorhin.

Nach der Infizierung der dritten Scheibe kann, wenn das Aussaatmaterial sehr keimreich war, die Oese einmal ausgeglüht werden.

Die vierte Scheibe wird dann von der dritten abgeimpft u. s. f.

---

einem unten an der Ausflussspitze hängenden Tropfen erst sechs zehnpfennigstückgrosse Kreise auf allen Platten und beginnt dann von der ersten ab, die gezognen Ringe mit 5—7 Tropfen Gelatine auszufüllen.

Der nach erfolgter Verreibung der sechsten Scheibe in der Oese bleibende Tropfen wird durch wiederholtes Auftupfen der Oese zwischen den einzelnen Scheiben niedergelegt; es entwickeln sich in solchen Tröpfchen oft sehr schön isolierte Kolonien.

Jetzt kontrolliert man nochmal die Richtigkeit der Aufschrift des Zettels unter der Platte.

Die erste Platte kommt an die letzte Stelle.

Die nachfolgende wird mit der nächsten bestimmten Probe in der nämlichen Weise infiziert.

Sollte die Gelatine unterdessen zähflüssig geworden sein, so wird sie durch kurze Erwärmung in angemessner Entfernung über der Flamme wieder dünnflüssig (nicht heiss!) gemacht.

Sind sämtliche Aussaaten fertig, so kommt der Deckel auf die Schale und die feuchte Kammer, wenn die Gelatine erstarrt ist, an einen dunkeln Ort von nicht über 22 ^{0}.

Richtig angelegte Platten zeigen ihre Gelatinescheiben nach einem oder einigen Tagen mit Kolonien besetzt. Die erste Scheibe ist durchaus getrübt, von der zweiten ab macht sich eine immer weniger dichte Besetzung bemerkbar und die letzten enthalten die Ansiedlungen in reichlichen Abständen verteilt. Hatte die Ausbreitung ungleichmässig stattgefunden, so sind die Scheiben teilweise mit Kolonien zu dicht, teilweise gar nicht bewachsen. Waren peptonisierende Keime im Ausgangsmaterial, so sind die ersten Scheiben oft vollständig verflüssigt. Um die übrigen nicht zu gefährden, werden sie mit entfetteter Watte und Pinzette aufgenommen, die Watte alsbald ins Wasser zum Kochen gelegt, die Pinzette in 1 % Sodalösung abgekocht oder in der Flamme sterilisiert. Etwa an den Rand der Platte oder gar an ihre Unterseite geflossne Kulturflüssigkeit wird mit Watte in derselben Weise aufgenommen, dann mit in 1—2 ‰ Sublimatlösung getauchter Watte abgewischt und mit Fliesspapier getrocknet. Die Sublimatwatte kommt in die Lösung zurück, die später weggegossen wird, das Fliesspapier wird sofort verbrannt. Die Finger, die die Platte anfassten, werden, auch wenn keine Spur von Feuchtigkeit an ihnen zu sehen ist, in frischer Sublimatlösung energisch mit Watte abgerieben und nach den S. 170 angegebnen Regeln gewaschen und desinfiziert.

Anlegung von Agarplatten.

Alle Bakterien, die bei Zimmerwärme langsam oder nicht fortkommen, werden auf dem brutbeständigen Agar gezüchtet, den man zur Trennung und Isolierung der Keime, wie die Gelatine auf einer grössern Fläche in dünner Schicht ausbreitet.

Freilich muss man dabei gewisser Vorteile entraten: die Nährgelatine ist heller und klarer; die Peptonisierung ferner, die sie unter dem Einflusse verschiedner Bakterienarten erfährt, orientiert den Untersucher rascher; so können z. B. Ansiedlungen von Cholerabakterien in einer Aussaat von Darminhalt, der in der Regel keine oder spärliche verflüssigende Keime enthält, durch den ihnen eigen-

tümlichen kleinen Verflüssigungstrichter den Beobachter leichter auf die richtige Spur führen. Andrerseits kürzt die Verwendung des Agars und der Brutwärme die Entwicklungsfrist ganz wesentlich ab, die Diagnose kann früher gestellt werden, abgesehen davon, dass höhere Wärmegrade für das Gedeihen einer Reihe von pathogenen Arten unbedingtes Erfordernis sind.

Infolge der Eigenschaft der Agarlösung, erst bei 98° flüssig zu werden und bei 40° bereits wieder zu erstarren, ist es schwer, damit das Plattenverfahren in der bei Gelatine gebräuchlichen Art und Weise durchzuführen. Nach der Erhitzung im siedenden Wasserbade muss man zuwarten, bis die Temperatur auf etwa 42—44° gesunken ist, um nicht eine Anzahl der Keime durch zu hohe Wärme zu verlieren; dann aber heisst es flink arbeiten, die drei Verdünnungen und das Ausschütten der Nährlösung in die Schälchen müssen beendigt sein, ehe sie zur Gallerte erstarrt.

Gewöhnliche Glasplatten sind hier nicht zu gebrauchen. Die Agarhaut haftet viel zu schlecht am Glase und wird durch ausgepresstes Wasser nur im labilen Gleichgewicht gehalten; sowie die feuchte Kammer schief steht, gleitet die Agarschicht nach und nach ab.

Besser dagegen hält sie in Schalen und findet hier an der Wand eine derartige Stütze, dass sie auch beim Umkehren nicht heruntersinkt. Das ist wichtig; denn alle Schälchen mit Agar sollen bis zur mikroskopischen Untersuchung umgekehrt bleiben. Schon bei der Impfung ist dadurch ein Schutz vor Luftkeimen gegeben, noch mehr aber bei der Aufbewahrung im Brutschrank. Das bei der Abkühlung (z. B. durch Oeffnung der Thüre des Brutschrankes) aus der mit Feuchtigkeit gesättigten Luft der Kulturschale sich abscheidende Wasser beschlägt Deckel und Wände in sichtbaren Tropfen, die später zusammen und längs der Wand herabfliessen; so wird die Agaroberfläche ganz oder grossenteils überschwemmt und jede Trennung von Kolonien ist hinfällig geworden. Das ist unmöglich, wenn der Nährboden an der höchsten Stelle liegt. Um ausserdem jede übermässige Taubildung zu vermeiden, stellen wir die Agarschälchen auch nicht in eine feuchte Kammer. Damit sie aber doch in ruhiger Luft, möglichst geschützt vor plötzlicher Abkühlung und vor Keimen, die an den freiliegenden Saum des nach oben sehenden Deckels gelangen können, zu halten, verfahre ich also:

Eine einzelne Glasschale von 15 cm Durchmesser wird am Boden mit trocknem Fliesspapier bekleidet, und auf dieses die erste Kulturschale mit dem Deckel nach unten gelegt; etwa folgende werden übereinander geschichtet, durch zwischengebrachte Papierscheibchen vorm gegenseitigen Verkritzen bewahrt. Ueber die so gebildete Säule wird ein Becherglas von etwa 11 cm Weite und 20 cm Höhe gestülpt. Auf diese Weise werden die Schalen innen nicht nass, liegen auch nicht zu trocken, nehmen wenig Raum weg und können bequem in den Brutschrank gesetzt und zusammen wieder herausgenommen werden. Schalen mit geschrägten Wänden, wie sie Babes (C. 4. 26) verwendet, oder besonders gedichtete feuchte Kammern für jede einzelne Schale nach Dahmen (C. 11. 84) sind somit entbehrlich geworden.

Nachdem die physikalischen Eigenschaften des Agar die Verdünnungen so sehr unbequem machen, ist man mit der Zeit mehr und

mehr von ihnen abgekommen und hat die verflüssigte Masse erst im Schälchen ausgebreitet und erstarren lassen und dann die Verteilung des Impfmaterials durch Ausstreichen auf der Oberfläche vorgenommen. Die Trennung der Keime gelingt auch auf diese Weise zur Genüge und die Methode gewährt noch dazu den Vorteil, dass die oberflächliche Lagerung ein ungehindertes Wachstum und eine Erleichterung in der Abimpfung der entwickelten Ansiedlungen zur Folge hat.

Unter Verwertung aller dieser Gesichtspunkte gestaltet sich das Agarplattenverfahren in folgender Weise:

Verflüssigung des Inhaltes*) der Reagensröhrchen im siedenden Wasserbade.

Aufstellung von sterilisierten Doppelschalen (von etwa 8—10 cm Durchmesser) auf eine möglichst horizontale Fläche ohne Kühlung.

Abtrocknung der aus dem Wasserbade genommenen Röhrchen, Herausdrehung des Wattestopfens, Abglühung des Glasrandes in der Flamme; bei schräger Haltung kurze Zeit abkühlen lassen.

Ausschütten des Inhaltes in die Schale, wobei der Deckel zum Schutz gegen auffallende Keime nur halb gelüftet ist.

Auf- und Abneigung des Schälchens zur gleichmässigen Verteilung der Nährlösung auf dem Boden.

Erstarrenlassen auf ebener Unterlage (hier darf Eiskühlung benützt werden).

Impfung:

Das Schälchen mit der erkalteten Agarmasse wird umgekehrt.

Die Schale wird vom Deckel genommen, und, während der Nährboden immer nach unten sieht, eine kleine Menge des Aussaatmaterials auf die Agaroberfläche an eine etwa 1 cm vom Rande entfernte Stelle mit der Platinöse (oder -Nadel) niedergelegt.

Ein recht dünner Platindraht, eingeschmolzen in einen Glasstab, am Ende zu einer Oese oder einem nicht zu kleinen Dreieck geformt, das umgebogen im Winkel zum Stab steht (damit eine Verletzung der Agarschicht nicht so leicht möglich ist), wird geglüht und abkühlen lassen. Damit

Verteilung des Impfmateriales mit nicht zu dicht angelegten schneckenförmigen oder ellipsoiden Zügen, oder in parallelen Schlangenlinien auf der ganzen Oberfläche des Nährbodens.

Stückchen von Organen, Membranen, Sputum etc., die nicht mehr als ½—2 mm im Durchmesser halten sollen, werden in ähnlichen Windungen herumgeführt und bleiben schliesslich liegen. Aeusserlich mit unerwünschten Keimen (z. B. aus der Mundhöhle bei Membranen, Sputum etc.) behaftete Proben werden in mehreren Portionen sterilisierten Wassers vor der Aussaat abgewaschen.

Auflegen der Agarschale auf ihren Deckel; Ausglühen des Drahtes.

Aufklebung eines Zettelchens mit Bezeichnung des Impfmateriales und des Datums auf der Aussenseite des Deckels.

---

*) Dem Fleischextrakt- oder Fleischwasser-Pepton-Agar kann Glyzerin (4—5%) zugesetzt sein; oder für bestimmte Kulturzwecke das Blutserum von Tieren oder Menschen im Verhältnis von 1 : 3. (Hueppe; Wertheim.)

Einstellung der stets umgekehrt bleibenden Doppelschale in den Brutschrank in einer 15 cm weiten Grundschale, bedeckt vom Becherglas.

Besondre Fälle von sehr langsam wachsenden Bakterien abgerechnet, lassen sich am andern Tage, ja selbst schon nach 6—12 Stunden Ergebnisse erwarten. Die umgekehrten Schalen können, ohne geöffnet zu sein, unter dem Mikroskop durchgemustert werden. Wird das Bild jedoch nicht in dem wünschenswerten Grade scharf, oder ist eine Abimpfung nötig, so muss die Agarschale vom Deckel weggenommen und aufrecht untersucht werden.

Von diesem Augenblick an kann natürlich von einer einwandfreien Weiterzüchtung nicht mehr die Rede sein.

Bei der Entfernung der Schale vom Deckel ist wohl zu bedenken, dass trotz der trocknen Aufbewahrung doch Feuchtigkeit sich gesammelt haben und vom Nährboden auf den Deckel geflossen sein kann; gleichzeitig mit ihr Keime, die sich hier rasch weiter entwickeln konnten. Es ist deshalb ganz besondre Vorsicht bei der Handhabung der Schalen geboten. Am Rande dürfen sie niemals berührt werden! Nach dem Anfassen auch bloss der Aussenwand ist Reinigung der Finger in bereitstehender Schale mit Sublimatlösung und Watte dringend geboten!

Gewinnung von Reinkulturen aus Plattenaussaaten.

Das Endziel der zur Isolierung der Keime mit Nährgelatine oder -Agar bereiteten Platte ist die Gewinnung von Reinkulturen.

Zu diesem Zwecke durchmustert man die Platte bei schwacher Vergrösserung (etwa 40, 70—100fach) unter gleichzeitiger Benützung einer zwischen Spiegel und Beleuchtungsapparat eingeschobnen engen Blende.

Die als geeignet befundene Kolonie wird „abgeimpft“, „gefischt“ oder „abgestochen“.

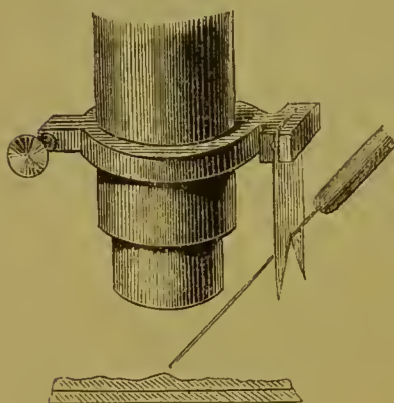
Bei einiger Uebung gelingt es leicht, nicht allzukleine Ansiedlungen inmitten zahlreicher andrer mit dem blossen Auge wiederzuerkennen, wenn man sie einmal im Mikroskop gesehen und sich die gegenseitige Lage der Umgebung gemerkt hat; nur berücksichtige man, dass das Bild ein umgekehrtes war! Während die Platte genau an ihrem Platze bleibt, wird der Revolverobjektträger etwas zur Seite geschoben, damit man das Feld frei hat, und die Kolonie, von deren isolierten Lage und Reinheit man sich überzeugt hat, mit der sterilisierten, gespitzten Platinnadel berührt. Einstellung des Objektivs und ein Blick ins Mikroskop genügt, sich davon zu überzeugen, dass man wirklich die bestimmte Kolonie und bloss diese getroffen. Dann wird, während der Platindraht immer zwischen den Fingern gehalten war, ein Reagensröhrchen mit festem Nährboden, wie bei der Anlegung der I. Verdünnung beschrieben, in die Hand genommen, der Wattepfropf herausgenommen und zwischen den 3. und 4. Finger gegeben; die Wattefasern am Reagensglasrand in der Flamme abgesengt und die

infizierte Platinnadel eingestochen. Aufsetzen des Wattepfropfens, Ausglühen der Nadel; Aufbewahrung der neuen Kultur am dunkeln Ort!

Will man ganz sicher gehen, so nimmt man das Fischen unter Kontrolle vor. Der kleine Finger der rechten Hand sucht neben der Platte auf dem Objekttisch eine Stütze. Die schreibfederartig gehaltne Platinnadel wird zwischen Objektivlinse und Platte (ohne eine von beiden zu berühren!) geführt, ins Mikroskop gesehen, bis man die Spitze des Platindrahtes wahrnimmt, die Spitze sachte gesenkt, die Kolonie berührt, etwas davon weggenommen und der Platindraht vorsichtig wieder entfernt, um wie vorhin in ein Reagensglas mit Gelatine oder Agar eingestochen zu werden.

Um einen Stützpunkt für den von der Platte abimpfenden Platindraht zu gewinnen, hat Prausnitz (C. 9. 128) ein kleines, fahnenförmiges Platinblech mit dreieckigem Ausschnitt mit einem Ringe am Objektiv befestigt (Fig. 70).

Fig. 70.



Stehen die Keime derart dicht, dass eine isolierte Abimpfung nicht gelingen kann, so wird ein kleiner Bezirk mit der Platinnadel umgrenzt, ausgeschnitten und in verflüssigte Gelatine übertragen, aus der nach gründlicher Vermischung Verdünnungen angelegt und neuerdings Platten gegossen werden müssen.

Dasselbe muss geschehen, wenn überhaupt Zweifel an der Reinheit der abgestochnen Kulturen bestehen.

Zur Abimpfung hat Unna (C. 11. 278) eine „Bakterien-Harpune“ fertigen lassen, d. i. eine Nadel, die nach genauer Zentrierung mittels eines Okularfadenkreuzes an die Stelle des Objektivs gesetzt, durch geeignete Bewegung des Tubus in die Gelatine getaucht und wieder herausgezogen wird. Diese Nadel haben Freymuth und Lickfett durch eine horizontal abgeschnittene, möglichst dünne Pravazsche Kanüle ersetzen lassen, die einen feinen Cylinder aus der Platte sticht; nur muss letztere, während die Nadel eintaucht, ein klein wenig verschoben werden, damit sich der Cylinder von der Glasunterlage loslöst (D. 93. 457). Eine Vorrichtung, die Fodor zur ähnlichen mechanischen Abimpfung unter gleichzeitiger mikroskopischer Kontrolle fertigen liess (C. 10. 721), ist wegen ihres hohen Preises — 40 M. — nicht gerade geeignet, eine besondre Verbreitung zu finden.

Auch von Rollplatten gelingt eine Abimpfung unter Leitung des Mikroskops, freilich weniger leicht; es ist dazu eine Platinnadel mit hakenförmig umgebogner Spitze von Vorteil.

Die Trennung von Keimen, die auf festen Nährboden bisher nicht zur Entwicklung gebracht werden konnten, aber in flüssigen Medien angetroffen wurden, versuchte Drossbach durch ein Verfahren zu erreichen, das bewirkt, dass in Flüssigkeit verteilte Kleinwesen ebenfalls an einer bestimmten, isolierten Stelle liegen bleiben, und sich dort getrennt vermehren.

Platten von etwa 100 qcm Grösse und ziemlicher Dicke, versehen mit zahlreichen (3—16 auf 1 qcm) Vertiefungen, die 2—3 mm in die Glasmasse eindringen, werden mit 2—3 ccm der keimhaltigen Nähr-

flüssigkeit übergossen. Man sorgt durch geeignete Verdünnungen dafür, dass voraussichtlich die Zahl der Keime die der auf der Platte vorhandnen Vertiefungen nicht erreicht. Zwischen diesen darf keine Flüssigkeitsbrücke bestehen bleiben (Abtupfen mit sterilisiertem Fliesspapier). Die Platten werden in feuchter Kammer aufbewahrt. Improvisieren lassen sie sich, indem man Schälchen 3 mm hoch mit Paraffin ausgiesst und nach dem Erstarren die Vertiefungen mit einem feinen, korkbohrerartigen, sterilisierten Instrumente aussticht (C. 13. 455; s. a. Holten C. 13. 752).

Weiterzüchtung und Anlegung von Sammlungen.

Ist mittels des Plattenverfahrens die Reinkultur einer Bakterienart geglückt, so folgt die Aufgabe, sie als solche unter möglichster Erhaltung ihrer Form- und Lebenseigentümlichkeiten fortzuzüchten. Da bei wiederholter Oeffnung des Reagensglases die Möglichkeit, Verunreinigungen in die Kultur zu bekommen, wächst, so darf sie nicht öfter als einmal und zwar nur zum Zweck der unmittelbaren Ueberimpfung auf frischen Nährboden ihres schützenden Wattestopfens entkleidet werden. Ehe also zur Ausführung irgend welcher weiterer Untersuchungen Material von ihr entnommen wird, ist zuvörderst diese Abimpfung zu bethätigen, entweder durch Einstechung des infizierten Platindrahtes in die Gelatine- oder Agarsäule: **„Stichkultur“** oder als **„Strichkultur“**, indem man über die Oberfläche des schräg erstarrten festen Nährbodens eine Linie zieht, ohne dass der Platindraht in die Tiefe dringt. Letztere gewährt den Vorteil der reichlicheren Ernte und bequemern seinerzeitigen Abimpfung; erstere trägt bis zu einem gewissen Grade dem Sauerstoffabschluss Rechnung, denn oft sagen den Bakterien ausschliesslich aërobiotische Bedingungen für die Dauer nicht zu.

Es lassen sich auch beide Zwecke vereinigen, wenn man erst auf der Oberfläche des Nährbodens den Strich führt und dann in die untere, massigere Schichte einen Stich macht.

Die Strichkultur gestattet sogar eine teilweise mikroskopische Besichtigung. Dazu fasst man das Röhrchen oben und legt es so auf den Objekttisch, dass das dünne Ende der vom Nährboden gebildeten Zunge mit der Ansiedlung nach unten, also nach dem Beleuchtungsapparat zu sieht, schiebt auf einer Seite einige Objektträger unter, damit die Kuppe des Reagensröhrchens etwas tiefer steht und etwaiges Schwitzwasser unten bleibt und schützt das Röhrchen durch seitlich angelegte Bleiklötzchen oder dgl. vorm Rollen. Beneke legt die Stichkulturen, um auch sie mikroskopieren zu können, statt in der Mitte ganz seitlich zwischen Glasrand und Gelatinemasse an, entweder mit der gewöhnlichen oder mit einer bajonettförmig gebognen Platinnadel (C. 14. 174).

In jedem Laboratorium soll eine Reihe der bekannteren Arten von pathogenen und nicht krankheitserregenden Kleinwesen in Reinkultur vorrätig sein, um jederzeit als Ausgangspunkt für Untersuchungen, namentlich vergleichende, dienen zu können.

Um eine solche **Sammlung** stets auf dem Laufenden zu haben, ist von Zeit zu Zeit eine Uebertragung auf neuen Nährboden notwendig, damit die Kulturen nicht Einbusse an ihren biologischen Eigentümlichkeiten erfahren oder gar absterben.

Dazu ist in erster Linie ein best geeignetes Nährmittel erforderlich. Gerade diese Forderung ist am schwierigsten zu erfüllen. Nachdem die verschiednen Kleinwesen verschiedne Ernährungs- und Wachstumsbedingungen beanspruchen, vor allem die Reaktion des Nährmittels für die einzelnen abgestuft werden soll, müsste man sie wenigstens für gewisse Gruppen entsprechend gestalten.

Leider lässt sich das praktisch nicht immer durchführen. Nur grössere Institute mit mehreren Hilfsarbeitern, deren jeder eine bestimmte Gruppe von Kulturen (durch experimentelle Forschung müssten diese erst zusammengestellt werden) überwiesen bekommt, sind dazu in der Lage. Der einzelne wird bei der bisherigen Verwendung der Durchschnittsnährboden bleiben müssen.

In zweiter Linie kommt die Frist in Betracht, innerhalb deren die Umzüchtungen zu erfolgen haben. Im allgemeinen rechnet man vier Wochen. Besonders wertvolle oder anspruchsvollere Kulturen aber müssen mindestens alle 14 Tage „umgestochen" und womöglich nicht bloss auf festen, sondern auch auf flüssigen Nährboden weitergezüchtet werden*). Eine ab und zu vorgenommene rasch und leicht ausführbare Kontrolle durch Aussaat auf Gelatinescheiben schützt vor dem Uebersehen von Verunreinigungen.

Dazu noch einige nähere Anhaltepunkte:

Die einzelnen Reinzüchtungen für eine Sammlung verschafft man sich entweder durch Selbstgewinnung aus Se- und Exkreten, oder Organen Kranker oder von Leichen, von den Stätten ihres natürlichen Vorkommens, oder durch zufällige Begegnung, oder bezieht sie anderweitig aus zuverlässiger Quelle. Von Králs bakteriologischem Laboratorium (Prag I, Kleiner Ring 11) sind Reinkulturen der wichtigsten Arten zum Preis von 1—2 M. zu beziehen; Kloenne & Müller (Berlin NW., Luisenstr. 49) verlangen 7.50—10 M. für die Kultur. Ehe sie endgültig der Sammlung einverleibt werden, ist eine Kontrolle durch das Gelatinescheibenverfahren oder Ausstriche auf Agarplatte, bei Krankheitserregern, wo angängig, eine Virulenzprüfung durch Ueberimpfung auf ein empfängliches Tier mit folgender Plattenaussaat anzuraten.

Zur ferneren Fortführung der Sammlung wird zunächst ein Verzeichnis nach irgend welchen Gesichtspunkten (pathogene, nicht pathogene, farbstoffbildende etc. Bakterien) angelegt. Dann teilt man einen Bogen Papier durch Längs- und Querlinien in Rechtecke von der Grösse der gebräuchlichen Aufschriftzettel und schreibt in je ein Feld den ausführlichen Namen jeder einzelnen Art, noch Platz lassend für etwaige Bemerkungen und Einsetzung des Datums. Linien und Schrift werden mit Hektographentinte aufgetragen und der Bogen hekto-

---

*) Das ist besonders für Cholerabakterien zu raten. Nicht selten gehen Kulturen, die sich Monate und Jahre lang fortzüchten liessen, plötzlich, ohne erfindliche Ursache ein.

graphisch vervielfältigt*), um nicht in jedem Monat die Aufschriften frisch fertigen zu müssen. Jedes Blatt wird auf der Rückseite mit Klebemasse bestrichen und getrocknet.

Zum Umstechen werden die 4 Wochen alten Kulturen in der ersten Reihe mehrerer Reagensglasgestelle der Ordnung nach aufgestellt, davor in der zweiten die neu zu impfenden Röhrchen, jedes mit dem entsprechenden Zettel versehen. Bei der Abimpfung überzeugt man sich nochmals von der Uebereinstimmung der beiden Aufschriften. Links steht ein Reischauerscher Mikrobrenner, rechts ein Brenner mit Sparflamme. In diesem wird der Platindraht ausgeglüht. Dann kommen die beiden Röhrchen in die linke Hand und die Wattepfropfen zwischen je zwei Finger in der Weise, wie Fig. 65 S. 107 zeigt. Alsdann werden die beiden Mündungen durch kurzdauernde Absengung im Mikrobrenner von den anhängenden Wattefasern befreit (die Gläser bleiben in ihrer Haltung), mit dem Platindraht eine Spur von der Kultur im alten Röhrchen entnommen und ins neue übertragen, beide Wattepfropfen an Ort gebracht, der Platindraht abgeglüht und die Röhrchen wieder an ihre Stelle gesetzt. Sind in dieser Weise alle Kulturen überimpft, so wird das Datum auf jeder notiert (Tag, Monat und Jahr!) und sämtliche werden an einen dunkeln Platz aufgestellt. Es empfiehlt sich, neben dem Datum die Generationszahl zu verzeichnen. Fallen Uebertragungen aufs Tier dazwischen, so werden diese mit römischen Zahlen kenntlich gemacht.

In den nächsten Tagen überzeugt man sich vom Fortgange des Wachstums und achtet auf allenfallsige Verunreinigungen. Das wird in jedem Monat wiederholt. Drei Generationen jeder Kultur werden immer vorrätig gehalten**), und erst die vierte entfernt. Die Gläschen kommen für 1/2—1 Stunde in den Dampfapparat, danach kann der Inhalt ausgegossen und jedes Röhrchen gereinigt werden, um zur Füllung mit neuem Nährmaterial zu dienen, solange es das Glas aushält.

Viele Bakterien nehmen mit Zimmertemperatur vorlieb. Andre

---

*) Hektographentinte:

Anilinfarbstoff (Gentianaviolett)	5—10 Tl.
Alkohol	5 „
Mucilag. Gummi arabici	5 „
Dest. Wasser	35 „

Nach Lösung (24 Stunden) durch Flanell kolieren.

Mucilag. Gummi besteht aus 1 Tl. Gummi arabic. und 2 Tl. Wasser. Nach 1tägigem Stehen kolieren.

Hektographenmasse:

Gelatinetafeln	100 Tl.
Wasser	200 „
Glyzerin	400 „

Im warmen Wasserbade zu lösen. Dann in einen Blechkasten von angemessner Grösse ausgiessen. Nach Entfernung der oberflächlich liegenden Bläschen erkalten lassen.

Statt Gelatine lässt sich auch Kölner Leim zur Masse verwenden, 250 g werden mit 500 g Wasser 6 Stunden eingeweicht, nach Zusatz von 875 g Glyzerin auf dem Wasserbade gelöst und auf 1250 g eingedampft (Dietrichs Manual).

**) Für die Aufbewahrung der Reinkulturen sind in der von mir geleiteten Untersuchungsstelle 4 Kasten vorhanden, 31 × 14 × 20 cm gross, mit aufklappbarem Deckel. Jeder enthält ein 29 × 13 cm grosses, an zwei Handgriffen herausshebbares Reagensglasgestell mit 5 Reihen 20 mm weiter Löcher. Die ersten beiden Reihen nehmen die jüngsten Kulturen auf, die letzten beiden die gleichnamigen der zweiten Generation, die mittlere Reihe bleibt für etwaige besondre Zwecke und zur übersichtlichen Trennung frei. Die dritten (älteren) Generationen der Kulturen werden in becherförmigen Gefässen aufbewahrt.

aber, die nur bei Körperwärme fortkommen, oder wenigstens dabei besser gedeihen, werden auf Nähragar oder Blutserum überimpft und mindestens so lange im Brutschrank gehalten, bis genügende Entwicklung erfolgt ist.

Dauernde Aufbewahrung wird für besonders gut und schön gewachsne Kulturen oft gewünscht. Da einerseits der beständige Luftzutritt den meisten Bakterien nachteilig zu sein scheint, andrerseits ein Nährboden unter blossem Watteverschluss eintrocknet, ist ein **gasdichter Abschluss** erforderlich.

Er gelingt auf verschiedne Art, entweder mit Paraffin oder durch Abschmelzung. Letzteres ist sicherer. Man hält das Röhrchen horizontal, entfernt den Wattestopfen und dreht es langsam, während das Ende nahe am Rand im obern Teil der Flamme des Bunsenbrenners oder vor einer Gebläselampe sich befindet. Fängt die Mündung nach dem Weichwerden des Glases an, herabzusinken, so wird sie von einer Pinzette unterstützt. Ist das Glas ringsum ganz weich geworden, so zieht man mit der Pinzette langsam und sehr wenig aus, der Hals wird immer enger und schmilzt endlich zu. Král hat dafür eine recht genaue Beschreibung gegeben, worauf ich den verweise, der ähnlich hübsche Dauerpräparate zustande bringen will, wie sie dieser Autor schon wiederholt in Ausstellungen gezeigt hat. Von ihm und Soyka rühren noch weitere Verfahren zur Herstellung gelungner Dauerkulturen her, die C. 1. 542, Z. 4. 144 und 5. 499 geschildert sind.

Der Paraffinverschluss nach Czaplewski: Gewöhnliche Reagensglaskulturen, die am besten noch nicht auf der Höhe ihrer Entwicklung angelangt sind, werden senkrecht aufgestellt, nachdem der oberflächlich abgesengte Wattepfropf bis 2—3 mm unterhalb der Mündung hineingestossen wurde; dann wird geschmolznes hartes Paraffin aufgegossen. Es entweichen aus dem Wattepfropfen reichlich Luftblasen und bald ist die erste Paraffinportion aufgesaugt. Man giesse nach, bis die Flüssigkeit gleichmässig bis zum Rande stehen bleibt. An der kältern Glaswand erstarrt das Paraffin zuerst. Dabei sinkt die Oberfläche, die sich mit einer immer dicker werdenden Haut bedeckt, ein. Diese trichterförmige Einziehung muss von neuem aufgefüllt werden. Um die Oberfläche glatt zu haben, drückt man sie entweder, solange sie noch nicht ganz starr ist, auf eine glatte Metallfläche fest auf, oder man tropft im Ueberschuss Paraffin zu und schneidet das überstehende nach dem Erkalten mit dem Messer ab. Sollen solche Gläser später geöffnet werden, so wird ein kleiner Korkzieher in den Paraffinpfropf hineingedreht, der Hals des Reagensglases vorsichtig drehend in der Flamme gehalten, worauf sich der Wattepfropf wie ein gewöhnlicher Kork leicht entfernen lässt (C. 6. 409).

Schalen mit Kulturen werden umgekehrt auf den Tisch gelegt und der Zwischenraum zwischen der untern und dem übergreifenden Rand der obern Schale mit verflüssigtem Paraffin ausgegossen (C. 6. 410).

Rollröhrchen goss Prausnitz zur Konservierung im jeweiligen Zustande mit einer wässrigen Gelatinelösung aus, der ein Zusatz von 5% Essig- oder 1% Karbolsäure gegeben war, und verschloss mit Kork und Siegellack (C. 9. 131).

Zur Demonstration von Reagensgläsern hat Babes ein verschliessbares Gestell angegeben (C. 4. 25).

Auch einzelne Kolonien lassen sich bewahren: Garré trocknete die Gelatinestückchen auf dem Objektträger und schloss sie mit einem Tropfen konzentrierter Glyzeringelatine unter dem Deckglase ein (F. 4. 392); Plaut erwärmte sie mit wenig Wasser bis zur Zähflüssigkeit (F. 4. 419) und umgab das aufgelegte Deckglas mit einem Lackring. Lipez (C. 1. 402) liess die Kolonie auf einem mit dem infizierten Nährboden überzognen Deckglas zur Entwicklung kommen, trocknete im Exsikkator und verfuhr dann wie mit gewöhnlichen Deckglaspräparaten. Jacobi (C. 3. 536) setzte die in möglichst dünner Schicht ausgebreitete, kolonientragende Gelatine erst der Einwirkung von 1%iger Kaliumbichromatlösung 1—3 Tage lang bei Lichtzutritt aus, härtete sie nach Auswässerung in Alkohol und zerschnitt sie in Stücke, um diese wie Gewebsschnitte zu färben und einzuschliessen. — Teilchen von Agarplatten konservierte Günther in der Weise, dass er sie in ein auf dem Objektträger befindliches Tröpfchen Glyzerin brachte, nachher ein zweites Tröpfchen und schliesslich das Deckglas darauflegte; dem Absaugen etwa überschüssigen Glyzerins mit Hilfe eines Kapillarrohres liess er den Lackverschluss folgen (D. 89. 400). Ueber die Herstellung von Schnitten aus Stichkulturen s. S. 188.

Die **Konservierung mit Formalin,** von Hauser entdeckt und in die bakteriologische Technik eingeführt, ist unstreitig das beste aller bis jetzt bekannten derartigen Verfahren und gestattet, die Kulturen in jeder Stufe ihrer Entwicklung dauernd zu erhalten. Frisches, unzersetztes Formalin ist unbedingt erforderlich. Eine ihm ausgesetzt gewesene Gelatine u. dgl. wird vollständig keimfrei, ungeeignet für jegliches Bakterienwachstum und erleidet eigentümliche Veränderungen: Gelatine lässt sich dann überhaupt nicht mehr durch Hitze erweichen, etwa trüb gewesene wird klar und von peptonisierenden Kleinwesen verflüssigte wird wieder starr! (M. 93. 567 und 655).

Zu Platten hat man nur ein Blockschälchen mit einigen Kubikcentimetern Formalin in die feuchte Kammer zu stellen, wenn man die auf ihnen gewachsnen Ansiedlungen in ihrem augenblicklichen Stand festhalten will.

Hat man eine Reihe von Platten also behandelt, so bringt man sie zur fernern Aufbewahrung in ein Gefäss von Blech oder Glas geeigneter Grösse, getrennt durch Fächer, Einfalzungen oder dgl. und hält die Luft durch ein Schälchen mit Wasser darin feucht (es eignet sich das von Fermi [C. 14. 615] angegebne Muster).

Um die freigewordenen Doppelschalen (feuchte Kammern) ohne Schaden für weitere Kulturen gebrauchen zu können, muss jede Spur von Formalindämpfen durch Ausspülung mit Ammoniak beseitigt werden. Den Ammoniaküberschuss entfernt man mit etwas Salzsäure und folgender Wasserspülung.

Es lassen sich auch einzelne Ansiedlungen aus den formalinisierten Platten herausnehmen: Deckglasgrosse Stücke, die die gewählte Kolonie in der Mitte enthalten, werden mit einem scharfen Spatel herausgeschnitten, auf einen Objektträger übertragen und hier mit etwas frischer, verflüssigter Gelatine unter einem Deckglas eingeschlossen. Dieses Präparat kommt auf 24 Stunden in die Formalin-

kammer zur Erstarrung der Einschlussmasse und wird danach durch einen Lackring vorm Eintrocknen geschützt.

Eine Färbung der Bakterien lässt sich unschwer erzielen, wenn man das herausgeschnittne Gelatineplättchen für 24 Stunden in sehr schwache wässrige Fuchsinlösung (bis zu dunkelrosenroter Färbung) bringt und entweder wie vorhin einschliesst, oder auf dem Objektträger antrocknen lässt und dann in Kanadabalsam einbettet.

Schalen mit Gelatine- oder Agargüssen werden auf der Innenseite des Deckels mit Filtrierpapier belegt, worauf man 10—15 Tropfen Formalin träufelt; dann stellt man sie nebst einem offnen Schälchen, das Watte mit 15 Tropfen Formalin auf 1 l Rauminhalt benetzt enthält, in eine feuchte Kammer.

Reagensgläser mit Kulturen werden mit einem Wattepfropf versehen, dessen unteres Ende mit etwa 8—10 Tropfen Formalin angefeuchtet ist; sie werden senkrecht in ein mit gut schliessendem Deckel versehenes cylindrisches Glasgefäss (Präparatenglas) gestellt, auf dessen Boden Watte liegt, die mit 50—60 Tropfen Formalin auf 1 l Rauminhalt benetzt wird. Zur Sicherung der Eindringung der Formalindämpfe bis an die tiefen Stellen von Stichkulturen soll die Gelatinesäule im Reagensglase nicht höher als 4 cm sein; auch gibt man in der nächsten Zeit täglich noch einige Tropfen frischen Formalins in den Glascylinder. Später können die Reagensröhrchen in der früher angegebnen Weise luftdicht abgeschlossen werden.

Züchtung bei Körperwärme.

Wenn man auch in vielen Fällen mit der Zimmerwärme, wie sie im Sommer herrscht und im Winter neben dem geheizten Ofen vorhanden ist, auskommt, so sind doch mancherlei Untersuchungen, namentlich über krankheitserregende Bakterien ohne eine Wärme, die sich dauernd zwischen 31 und 39° hält, wesentlich beeinträchtigt, unter Umständen sogar unmöglich. Wer einmal angefangen hat, sich nur einigermassen eingehend mit bakteriologischen Untersuchungen zu beschäftigen, in dem wird der Wunsch nach einem Brutschrank täglich reger.

Eine Wärmevorrichtung lässt sich ohne viele Ausgaben nach v. Esmarch folgendermassen improvisieren: Auf den Boden eines ziemlich hohen Kochtopfes kommt eine weiche Einlage von Watte, Filz oder dgl. Mitten darauf stellt man ein grösseres Becherglas oder ähnliches cylindrisches Gefäss, dessen Boden mit etwas Sand oder Blei beschwert ist; nunmehr wird der Topf mit Wasser von 35—40° so weit gefüllt, dass es bis dicht an den Rand des Becherglases reicht. Nach oben hin wird der Abschluss durch einen Deckel bewirkt, auf den man eine Lage Watte als schlechten Wärmeleiter legt; der Deckel hat in der Mitte ein Loch, wodurch ein Thermometer bis ins Becherglas hineingeht. Der Topf steht auf einem Dreifuss und wird durch ein Nachtlicht erwärmt (H. 2. 661).

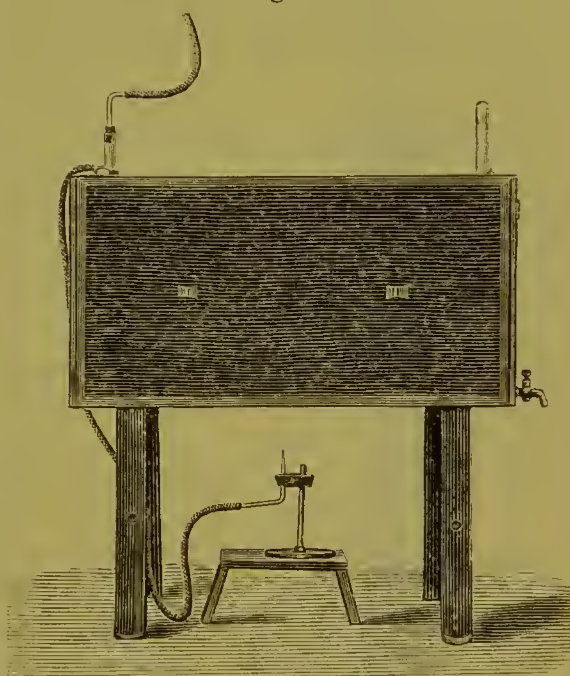
Die eigentlichen **Brutschränke** sind doppelwandig, mit Filz, Asbest oder Linoleum bekleidet, von viereckigem oder ovalem Querschnitt. Den ovalen wählte man zur Vermeidung stagnierender Luft in sog. toten Ecken, kam aber mehr und mehr wieder von ihm ab.

Die einfachsten, aber völlig brauchbaren Kasten sind von oben her zugänglich (Fig. 71). Der ganze Deckel, bestehend aus einem Rahmen mit Glasplatte und Filzdecke, ist abhebbar. Die fünf andern Seiten sind doppelwandig und mit der erwärmenden Flüssigkeit gefüllt. Als solche dient warmes destilliertes Wasser (Hueppe empfiehlt eine Mischung von Wasser und Glyzerin, wie bei den Gasuhren üblich ist; doch soll, wie ich in der Gasfabrik erfuhr, auch dabei Rost entstehen).

Das verdunstende Wasser muss rechtzeitig ergänzt werden, sonst kann von gleichmässiger Wärme nicht mehr die Rede sein. Ausserachtlassung der Nachfüllung bedingt Steigung der Temperatur, auf die der Regulator (s. u.) eingestellt ist.

In reicher begabten Laboratorien sind die weit widerstandsfähigeren Apparate aus Kupfer gebräuchlich. Die teuereren Schränke werden nicht von oben, sondern von vorne mittels einer einfachen oder einer Flügelthüre zugänglich gemacht, die wohl auch doppelt angebracht ist: eine innere von Glas und eine äussere dicke von Metall, gefüllt oder bedeckt mit schlecht die Wärme leitendem Material.

Fig. 71.



Ein Brutschrank soll innen so lang und breit sein, dass mindestens eine feuchte Kammer von 22—23 cm Durchmesser darin Platz hat, und so hoch, dass auf sie noch Reagensgläser gestellt werden können. Die Preisverzeichnisse der verschiednen Fabrikanten tragen jedem Bedürfnis Rechnung. Für einen Brutschrank einfachster Konstruktion rate ich zu einer Grösse von 50 × 25 × 30 (Höhe) cm. Wer einen Schrank gleichzeitig mit Einlagen zum Erstarrenlassen von Blutserum haben will, wähle die stehende Form von 25 × 25 × 38 (Höhe) cm. Bei so geringen Raumverhältnissen ist meist noch ein andrer „Vegetationskasten“ nötig, auch empfiehlt sich die Anschaffung eines zweiten „Thermostaten“, um im Winter neben Züchtungen bei Körperwärme welche bei 18—22° vornehmen zu können. Für Cholerauntersuchungen sind andauernde Temperaturen von 22° und nicht viel darunter erforderlich und braucht man darum auch zu andern Jahreszeiten bei kühler Witterung zwei Brutschränke, bei sehr heisser Zeit muss der Vegetationsschrank für Gelatine selbst gekühlt werden (Durchströmenlassen von Leitungswasser). Sonst ist zur Innehaltung von Wärmegraden bis 22° die Heizquelle ein Nachtlicht oder ein Petroleumlämpchen, da für solch niedere Wärmebreiten geeignete Wärmeregler für Gasheizung schwer zu haben sind.

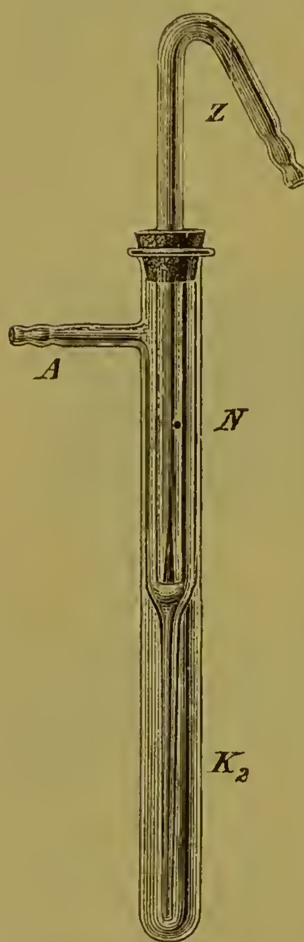
Zwei Nachtlichter oder Petroleum- oder Spiritusflämmchen genügen zwar auch zur Erzielung von Wärmegraden über 30° im Brutschrank, aber sie haben ausser dem Nachteil, durch Ansatz von Kohleteilchen

leicht zu verlöschen (bei Spiritusheizung durch Asbestdochte einigermassen vermeidbar), noch den Missstand, nicht oder nur schwer regulierbar zu sein.

Im Brutschrank soll eine annähernd gleiche Wärme herrschen. Da durch die wechselnde Aussentemperatur ein verschieden grosses Steigen und Sinken der Wasserwärme bedingt ist, so muss die Heizflamme bei steigender Wärme kleiner werden oder entfernter wirken und umgekehrt.

Für Petroleumheizung hat Despeignes einen Regulator konstruiert, der dieser Forderung gerecht werden soll (Cr. 9. 24), einen andern Schepilewsky (C. 14. 131); Landois hat selbstbereitete Stearinkerzen zur Heizung genommen, die auf einer Art Rollwagen stehen, der durch eine sinnreiche aber komplizierte, selbstthätig wirkende Vorrichtung weggezogen wird, so dass der Brutschrank der Einwirkung der Flamme nicht mehr ausgesetzt ist, bis die Wärme wieder zu sinken beginnt (C. 13. 256).

Fig. 72.



Eine bequeme und allen Anforderungen entsprechende Regelung kann aber nur beim Vorhandensein von Leuchtgas erzielt werden. Wegen des zu verschiednen Tages- und Nachtzeiten wechselnden Druckes hat man früher teuere Gasdruckregulatoren verwendet; man ist ganz von ihnen abgekommen, weil die durch einen von der Fabrik gegebnen hohen Gasdruck gesteigerte Flamme durch die Wirkung eines guten Thermoregulators sofort wieder klein wird.

Von den auf die mannigfaltigste Art eingerichteten **Thermoregulatoren** ist der zweckmässigste der von L. Meyer, der schon um den Preis von 7—8 M. in einer den Anforderungen durchaus entsprechenden Leistungsfähigkeit geliefert wird. (F. & M. Lautenschläger, Berlin.)

Das Gaszuführungsrohr Z (Fig. 72) besitzt unten einen spitzwinklig-dreieckigen Ausschnitt, einige Centimeter oberhalb eine feine Oeffnung, das sog. Notloch N. Das Rohr reicht in eine cylinderförmige Glaskammer, die einen seitlichen Ansatz A für den Abzug des Leuchtgases zum Brenner hat und oben mit einem vom Zuführungsrohr durchsetzten Stopfen verschlossen ist. Von ihrem Boden geht ein langes trichterförmiges, wohl auch in Korkzieherform gewundnes Glasrohr ab, das bis nahe zum Boden einer unten angesetzten zweiten Kammer (K_2) reicht. Diese Kammer ist zum Teil von Quecksilber, zum Teil von einer Spiritusäthermischung und ihren Dämpfen erfüllt. Mischung und Dämpfe sind durch das Quecksilber vollkommen von der Aussenwelt abgeschlossen. Mit zunehmender Erwärmung dehnen sich erstere energisch aus und schieben das Quecksilber vor sich her, das nach der obern Kammer ausweicht und den dreieckigen Ausschnitt am Gaszuführungsrohr mehr und mehr verschliesst. Das geschieht bei um so niederer Temperatur, je tiefer das Rohr in die Kammer hineinreicht und umgekehrt.

Einstellung des Thermoregulators. Eine Kochflasche oder ein hohes becherförmiges Gefäss wird mit Wasser gefüllt und der Thermoregulator mit einer Klemme am Stativ befestigt eingesenkt, so dass er sich zu etwa ²/₃ unter Wasser befindet, aber den Boden nicht berührt; daneben wird von einer zweiten Klemme ein Thermometer gehalten. Dann verbindet man das Zuführungsrohr mit dem Auslass der Gasleitung, das Abführungsrohr mit dem unter dem Topf stehenden Brenner durch Gummischläuche. Der Brenner muss einen Nickeldrahtnetzaufsatz tragen oder eine leuchtende Flamme haben oder ein Reischauerscher Mikrobrenner sein. Nun wird angezündet. Sowie das Thermometer einige Zehntelgrade über die Temperatur zeigt, die im Brutschrank herrschen soll, wird das Zuführungsrohr soweit vorsichtig niedergeschoben, bis die Flamme anfängt, kleiner zu werden. Steigt nun die Wärme des Wassers noch ein Weniges, so wird die Flamme von selbst vollends ganz klein. Verlöschen kann sie nicht, da durch das Notloch eben hinreichend Gas zuströmt. Ist die erste Einstellung damit beendigt, so beobachtet man noch einige Stunden und bessert, wenn nötig, durch feine Verschiebung des Zuleitungsrohres nach, oder mittels einer allenfalls vorhandnen seitlichen Schraube, die die Quecksilbersäule willkürlich etwas zu verlängern oder zu verkürzen gestattet. Ist alles in Ordnung, so werden Thermoregulator und Thermometer in je eine der am Brutschrank vorhandnen Tubulaturen gestellt, so dass sie tief im Wasser stecken. Das bereits auf die gewünschte Wärme gebrachte Wasser muss bis nahe zum Rande der Tubulaturen reichen. Dann wird die Schlauchverbindung (wie vorhin am Modell) hergestellt. Ist das Wasser nicht genügend warm, so verdichten sich augenblicklich die Aetherspiritusdämpfe im Innern des Regulators, die Quecksilbersäule sinkt entsprechend beträchtlich, die Gaszuführung wird frei und die Flamme unterm Thermostaten gross, bis das Wasser auf die beabsichtigte Temperatur gekommen ist. Da sich ein Auf- und Abschwanken der Wärme bei guter Aetherspiritusmischung nur in den minimalsten Grenzen hält, so ist die Temperatur eine sehr gleichmässige. Unter allen Umständen ist zu vermeiden, dass das Wasser, in das der Regulator gesetzt wird, über 40° hat. Im verhältnismässig günstigen Falle wird nur das Quecksilber nach dem Brenner zu in die Rohrleitung getrieben, im ungünstigen der Regulator zerrissen; das ist dem Brutschrank sehr nachteilig, weil das Quecksilber mit den andern Metallen sich amalgamiert.

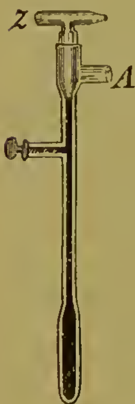
Gegen ein derartiges Vorkommnis gibt es jedoch einen Schutz. Statt den Thermoregulator unmittelbar in den Zwischenwandraum des Brutschrankes zu versenken, steckt man ihn erst in eine Messinghülse von etwa 23 cm Länge, 20—25 mm lichter Weite, mit hartgelötetem Boden und einer Krempe am oberen Ende versehen, womit sie, eingesenkt in den Zwischenwandraum, auf der Tubulatur ruht. An der Grenze des mittlern und obern Drittels der Hülse ist ein Loch angebracht, damit das Wasser einströmen und das Quecksilbergefäss des Thermoregulators umspülen kann.

Thermoregulatoren nach der beschriebnen Art werden zumeist für Temperaturen von 25—40° angefertigt. Unter 20° lässt sich dieses System überhaupt nicht mehr verwenden. Ist es — was nur für seltene, ganz bestimmte Untersuchungen in Frage kommt, notwendig, auch

unter dieser Grenze konstant bleibende Temperatur zu haben, so wird man auf den D'Arsonvalschen Thermostaten rekurrieren müssen (s. u.). Für höhere Temperaturen von 40—80 ⁰ dagegen lassen sich noch Regulatoren nach obigem Prinzip, aber mit andern Mischungen herstellen. Bei noch höheren Wärmegraden — über 100 ⁰ — kann man die Ausdehnung der Luft oder des Quecksilbers selbst zur Regulierung benützen.

Das ist der Fall beim Reichertschen Regulator, der verschiedentliche Abänderungen erfahren hat. In seiner ursprünglichen Gestalt (Fig. 73) sehen wir ein auf einer Seite des horizontalen Astes zugeschmolzenes T-Rohr als Gaszuführung (Z), das in der Form eines eingeschliffnen Stopfens auf den Regulator gesetzt, unten zur Spitze mit enger Mündung ausgezogen ist und etwas weiter oben das Notloch trägt. Die obere ampullenförmige Erweiterung des Regulators selbst hat seitlich das Ausführungsrohr A. Wie bei einem Thermometer ist unten das Quecksilbergefäss, aus dem ein Quecksilberfaden nach oben geht, der durch eine seitliche Schraube in seiner Länge verändert werden kann. Das obere Ende des Quecksilberfadens tritt kuppenförmig in den ampullenförmigen Raum und verschliesst dann das Zuführungsrohr Z; beim Sinken wird dessen Mündung wieder frei. Schon nach kurzem Gebrauche lagern sich aber auf der Oberfläche der Quecksilberkuppe unvermeidliche Unreinigkeiten des Leuchtgases ab, gelangen beim Sinken der Quecksilbersäule in die nahezu kapillare Röhre, der Faden reisst ab und damit ist jede richtige Funktionierung zu Ende. Ich muss deshalb von der Verwendung solcher Instrumente, die man noch vielfach mit der oder jener Abänderung sieht, abraten.

Fig. 73.



Ausser den beschriebnen gibt es noch eine ganze Reihe verschiedner Konstruktionen von Thermoregulatoren mit mancherlei Unterschiedlichkeiten, die den L. Meyerschen Regulator kaum übertreffen. Ihre Einrichtungen lassen sich an der Hand der gangbaren Preisverzeichnisse leicht studieren. Erwähnen möchte ich nur noch die teuern elektrischen Wärmeregler, die in zuverlässiger Ausführung besonders von F. & M. Lautenschläger (Berlin, Oranienburgerstr. 54) hergestellt werden.

Für ganz grosse Bruträume, wie sie im Kochschen und Pasteurschen Institut in Form kleiner Dunkelzimmer eingerichtet sind, wird die Wärmeregulierung durch andre Vorrichtungen erzielt. Roux (P. 5. 158) verwendete dazu starke, aneinandergeschweisste U-förmig gekrümmte Stäbe aus zwei Metallen (Zink und Eisen) von ungleicher Ausdehnung in der Wärme.

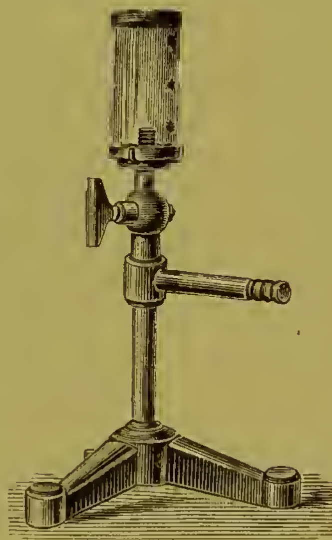
Ein viel genannter Brutschrank, bei dem die Ausdehnung des die Doppelwände erfüllenden Wassers selbst zur Regelung der Gaszufuhr benützt wird, ist der D'Arsonvalsche Thermostat. Er zeichnet sich durch grosse Zuverlässigkeit bei weitgesteckten Grenzen der Wärmebreite aus, kommt jedoch teuer, hat verhältnismässig wenig nutzbaren Raum und ist wenigstens bei den ältern Apparaten nur von oben zugänglich. Auch seine Instandstandsetzung bereitet einige Schwierigkeiten. Er darf nur mit abgekochtem, luftfreiem Wasser gefüllt werden, und nirgendwo darf eine Luftblase darin vorhanden sein. Deshalb ist

seine obere Begrenzung abgeschrägt und am obersten Punkte eine trichterförmige Oeffnung vorhanden, die gestrichen voll mit Wasser sein muss, dann wird ein von einer Glasröhre durchbohrter Kork aufgesetzt. Etwas unterhalb dieser Oeffnung ist die Regulierungsvorrichtung. In einen kreisförmigen Ausschnitt der äussern Wand ist eine Gummischeibe dicht eingesetzt, die bei Erwärmung und Ausdehnung des Wassers vorgewölbt wird und, je nachdem mehr oder weniger, die Ausströmungsöffnung des Gaszuleitungsrohres, das in einer Kapsel davor liegt, verschliesst; die Kapsel enthält noch eine Feder, die gegen die Gummimembran drückt, und eine Ableitungsöffnung für das Gas nach dem Brenner zu.

In wesentlich verbesserter Form und von vorn durch eine Thüre zugänglich, wird der Thermostat allein verfertigt von E. Adnet, Paris (Rue de l'Arbalète 35). Er reguliert Temperaturen bis zur Höhe von 120° genau und wird für niedere Temperaturen auf Wunsch mit Zirkulationseinrichtung für kaltes Wasser versehen. (Preis hoch; bis 50 cm Durchmesser und 60 cm Höhe kostet er 500 Fr.)

Für Fälle, wo Gas nicht vorhanden, hat Krasiltschik (P. 3. 166) am D'Arsonvalschen Apparat eine Regulierungsvorrichtung für Petroleumflammen angegeben und Ognjannkow eine solche für Benzinheizung ersonnen (Wratsch 90. 725).

Fig. 74.



Noch ein Wort über Gaslampen für Brutschränke. Gewöhnliche Bunsenbrenner sind wegen der oft sehr kleinen Flamme nicht zu gebrauchen, selbst Reischauersche nicht gut. Meistens nimmt man kleine leuchtende Flammen. Nur dürfen sie niemals den Boden des Apparates berühren, sonst setzt sich dort Russ ab, der als schlechter Wärmeleiter eine immer grössere Flamme nötig macht und trotzdem die Temperaturgleichheit des Wassers beeinträchtigt. Eine sog. Mikrogaslampe (Fig. 74) mit kleiner leuchtender, spitzer Flamme, die auf eisernem Fuss steht und Glimmercylinder hat, versieht ihren Dienst unter meinem Brutschranke zur vollen Zufriedenheit. In ihrer Ermanglung habe ich sogar nahezu 6 Jahre lang eine einfache, zur Spitze ausgezogne Glasröhre benützt, die rechtwinklig gebogen mit ihrem senkrechten Teil durch einen breiten Kork (einer Liebigschen Fleischextraktbüchse) geführt war. Dieser Kork trug noch eine zweite Durchbohrung, womit ich ihn an einem kleinen Stativ befestigte und so höher und tiefer schieben konnte (Fig. 71, S. 127). Ich habe nie eine Störung beobachtet.

Sicherheitslampen, die selbstthätig die Gaszufuhr abschliessen, wenn die Flamme verlöscht, wie die Koch-Pfeilsche, sind teuer; billiger ist eine neuere Konstruktion von Altmann (C. 12. 786); ob auch zuverlässig, kann ich aus eigner Erfahrung nicht sagen. Die beste ihrer Art ist jedenfalls die von F. & M. Lautenschläger hergestellte Heizvorrichtung, bei der die nicht leuchtende Flamme niemals durchschlagen kann, wie das bei der Koch-Pfeilschen so häufig vorkommt. Es ist ein in eine Klemme zu befestigendes Gasrohr mit

Drahtnetz an der Ausströmungs- und an der Luft zuführenden Oeffnung. Die Flamme erwärmt einen wagrecht über ihr angebrachten Stab, der aus zwei Metallen von verschiedner Ausdehnungsfähigkeit gearbeitet ist. Durch Hebelübertragung unterstützt er, erwärmt, den mit einem längeren, schweren Arm versehenen, geöffneten Gashahn. Erkaltet der Stab nach zufälligem Verlöschen der Flamme, so entzieht er dem Arm seine Stütze, der demnächst herabsinkt und damit die Gaszufuhr absperrt.

Derartige Sicherheitslampen haben nur nach einer Richtung hin Wert, wenn durch Zugluft oder durch eine Störung in der Gasfabrik oder in der Leitung die Flamme erlischt, sichern aber nicht gegen Unglücksfälle, die durch Undichtigkeiten auf dem Wege vom Gasauslass bis zum Brenner entstehen. Gerade solche sind aber nicht selten. Die zur Verbindung eingeschalteten Gummischlauchstücke bekommen mit der Zeit Sprünge oder reissen ein, namentlich an den Stellen, wo sie über ein weiteres Rohr von Glas oder Metall gestülpt sind. Hier ist wohl zu beachten:

1. Man nehme nur besten (schwarzen) Kautschukschlauch.
2. Man sichere die Verbindung mit den Glas- oder Metallrohrstücken durch Umlegung von Draht und dichte überall mit Paraffinüberzug.
3. Man prüfe die ganze Leitung des öfteren auf ihre Unversehrtheit durch den Geruch und durch vorsichtige Ableuchtung mit einer Spiritusflamme. Damit solche Prüfungen nicht zu lange Zeit unterbleiben, bringe man am Brutschrank oder in seiner Nähe eine Tafel an, auf der die jedesmalige Kontrolle verzeichnet wird; sie erinnert den Arbeitenden stets.

Züchtung unter Ausschluss von Sauerstoff.

Eine Anzahl von Bakterien findet bei Anwesenheit von Sauerstoff die Existenzbedingungen nicht. Solche heissen Anaërobier (S. 52). Ausser obligaten Anaërobiern ist die Bezeichnung fakultative Anaërobier in Gebrauch für solche, die ihr Dasein auch bei Luftzutritt zu fristen vermögen, während Bakterien, die in der Regel auf den Sauerstoff der Luft angewiesen sind, aber auch ohne ihn fortkommen, fakultative Aërobier genannt werden; es liegt auf der Hand, dass sich zwischen den beiden zuletzt genannten Arten eine nur einigermassen scharfe Grenze nicht ziehen lässt, wohl aber gegenüber den unbedingt auf das Vorhandensein von Sauerstoff angewiesenen Kleinwesen, den obligaten Aërobiern. Weitaus die meisten sind fakultative Aërobier.

Zur Züchtung unter Luftabschluss sind verschiedne Wege eingeschlagen, mancherlei Apparate konstruiert und wieder verbessert worden. Im allgemeinen bedarf es dazu entweder einer Luftpumpe oder eines Gasentwicklungsapparates zur Erzeugung von Wasserstoff.

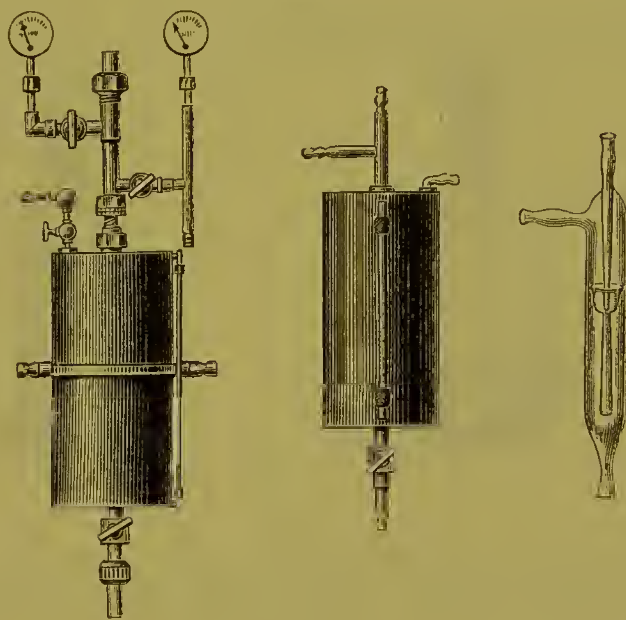
Der Verwendung einer Quecksilber- oder Handluftpumpe, die beide kostspielig und nicht bequem sind, ist eine Wasserstrahlluftpumpe vorzuziehen. Die einfachsten sind aus Glas gefertigt und zeichnen sich neben ihrer Billigkeit durch Leistungsfähigkeit aus (Fig. 75). Zwischen

der Pumpe und dem luftleer zu machenden Raum muss stets eine Woulfsche Flasche eingeschaltet sein zum Auffangen des Wassers, das sonst bei etwaigem unregelmässigen Gang nach dem Vakuum gelangen würde; zur Erkennung der Druckgrösse kann man sie auch mit einem Quecksilbermanometer in Verbindung setzen.

Noch besser sind grössere Wasserstrahlluftpumpen aus Metall die, wenn sie vollkommen sein sollen, mit zwei Federmanometern zur Angabe des positiven oder negativen Druckes versehen sind (Fig. 75).

Die erforderliche Wasserkraft ist in vielen Städten von der Leitung zu haben. Wenn nicht, müsste man es mit einem grössern Vorratsgefäss versuchen, das etwa 6—10 m über dem Arbeitsraum aufgestellt ist und von dem eine Rohrleitung hinab geht; liegt das Laboratorium selbst hoch, so kann man, wenn nur ein Reservoir vorhanden, die Saugwirkung durch ein 6—10 m langes von der Pumpe abgehendes Abflussrohr erzielen.

Fig. 75.



Viel häufiger wird die Methode der Verdrängung der Luft durch den indifferenten Wasserstoff angewendet. Zur Entwicklung dient am besten der Kippsche Apparat von 1 1/2 l Inhalt (Fig. 86).

Er besteht aus zwei Hauptteilen. Das untere Gefäss hat in der Mitte eine Verengerung, durch die ein kugelförmiger oberer und ein glockenförmiger unterer Raum gebildet werden. (Letzterer wird auch seitlich mit einem von Glas- oder Kautschukstopfen verschliessbaren Stutzen zur Entleerung des Inhaltes versehen, doch rate ich davon ab, weil leicht Undichtigkeiten entstehen.) Der kugelförmige Raum hat oben einen weiten Hals und seitlich einen Tubus, in den ein Kautschukpfropf fest eingedrückt wird, durch dessen Bohrung man ein knieförmig gebognes Glasrohr mit Hahn steckt. Der Raum wird bis zu 1/4—1/5 seiner Höhe mit in kleine Stücke zerbrochnen Zinkstäbchen oder mit granuliertem Zink gefüllt. (Granuliertes Zink erhält man durch Eingiessen des geschmolzenen Metalls in kaltes Wasser, das durch Umrühren mit einem Besen rasch bewegt wird; es gibt eine grössere Angriffsfläche für die Säure.) Zum Schutz gegen das Durchfallen des Zinks nach unten liegt über der Verengung eine Kautschukplatte mit einem zentralen Loch für den Durchtritt des Trichterrohres. Dieses, die Fortsetzung des obern birnförmigen Gefässes, ist an seinem obern Teil genau in den Hals

des kugelförmigen Raumes eingeschliffen und endigt nahe am Boden des Apparates. Es hat oben eine Oeffnung. Sie wird nach dem Eingiessen der verdünnten Säure mit einem Stopfen verschlossen, durch den ein Sicherheitsrohr geht, damit bei stürmischer Gasentwicklung keine Säuretropfen herausgeschleudert werden.

Die Füllung geschieht mit Hilfe eines Trichters mit einer Mischung von 1150 Wasser + 250 Schwefelsäure (etwa 1 : 5). Die Bereitung dieser Mischung erfolgt in einem Becherglase, das in einer Glasschale auf Papier steht. Dabei ist Vorsicht nötig! Immer muss zuerst das Wasser, dann die Schwefelsäure eingegossen werden; das umgekehrte Verfahren birgt bei der plötzlichen starken Erhitzung Gefahr! Ist die Mischung abgekühlt, so schliesst man erst den Hahn am knieförmig gebognen Rohr, setzt einen Trichter auf und giesst langsam in den Apparat. Ist das obere Gefäss nahezu voll, so kommt der Stopfen mit dem Sicherheitsrohr an die Stelle des Trichters. Wird nun der Hahn vorsichtig geöffnet, so steigt die verdünnte Säure allmählich zum Zink auf; bei der Berührung beginnt sofort die Gasentwicklung; hat der Wasserstoff die Luft verdrängt, was nach etwa 5 Minuten der Fall, so wird der Hahn wieder geschlossen. Das weiter sich entwickelnde Gas drückt die Säure vom Zink weg in das obere Gefäss zurück.

Je nach der Beschaffenheit des Zinks und der Säure ist der erzeugte Wasserstoff mehr oder weniger rein; er muss in jedem Fall von etwaigen Beimengungen

Fig. 76.



wie Schwefel, Arsen und Sauerstoff befreit werden. Dazu gehören drei sog. Vorlagen (Fig. 76 b), Flaschen*) oder Erlenmeyersche Kolben von etwa 150—200 ccm Inhalt (Fig. 76 a), wovon die erste mit 50—70 ccm einer 10%igen Lösung von Bleinitrat, die zweite schwarz lackierte mit einer ebensolchen von Silbernitrat und die dritte vorerst nur mit 3 g pulverförmiger Pyrogallussäure gefüllt wird. Nun werden zunächst die beiden ersten Flaschen mit je einem doppelt durchbohrten Kautschukpfropfen fest verstopft und dann durch jede Bohrung ein knieförmig gebognes Glasrohr eingeschoben, und zwar je ein kurzes und ein langes, fast bis zum Boden, jedenfalls in die Lösung reichendes. Das lange Rohr wird immer mit dem kurzen der vorhergehenden Flasche oder mit dem Auslasshahn des Kipp'schen Apparates durch einen guten (schwarzen) Gummischlauch verbunden. Ebenso wird die Verbindung des langen Röhrchens für die dritte Flasche vorbereitet. Sind diese Verbindungen hergestellt, so öffnet man den Hahn und lässt die ersten beiden Flaschen vom Wasserstoff gründlich durchspülen; unterdessen giesst man auf das Pyrogallol im dritten Glas 50—70 ccm Wasser, tropft 5—7 Tropfen Kalilauge zu, verschliesst sofort mit dem Gummistopfen und steckt das lange und das kurze Glasrohr durch die Bohrungen. Während das Wasserstoffgas beständig durchströmt, zieht man über das letzte kurze Ausführungsrohr

*) Geeignet sind auch die leicht in Apotheken zu bekommenden, braunen, dreikantigen Flaschen, worin die Angererschen Sublimatpastillen zu 100 Stück geliefert werden.

einen etwa 25 cm langen Gummischlauch und versieht diesen in der Mitte mit einem Schraubenquetschhahn (Fig. 86, S. 143), der zugedreht wird. Sind nun alle Verbindungen dicht, so muss augenblicklich die Säure im Apparat vom Zink weg in die Höhe steigen. Zur vollständigen Dichtung bepinselt man sämtliche Verbindungen von Glas und Kautschuk reichlich mit verflüssigtem Paraffin.

Geht die Gasentwicklung nach wiederholter Oeffnung des Hahns nicht mehr lebhaft vor sich, so giesst man oben in den Kippschen Apparat etwas konzentrierte Schwefelsäure. Hilft auch das nicht mehr, so muss die Füllung erneuert werden. Wird der vollständig armierte Apparat verschlossen ausser Gebrauch gesetzt, so entsteht durch Gasabsorption und -Verdichtung nach einiger Zeit ein negativer Druck, infolgedessen der Inhalt der einen Flasche rückwärts in die andre tritt; durch Abquetschung jeder Verbindungsröhre oder Abhängung der Waschflaschen kann man das vermeiden. Manchmal lässt sich der Glashahn am Ausführungsrohr nicht mehr aufdrehen. Dann muss dieses herausgenommen und für mehrere Stunden in warmes Wasser gelegt werden.

Züchtungsverfahren.

Es führen viererlei Arten zum Ziel:

1. der Ausschluss der Luft;
2. die mechanische Entfernung der Luft;
3. die Entfernung des Sauerstoffes der Luft auf chemischem Wege;
4. der Ersatz durch ein indifferentes Gas (Wasserstoff).

1. Der Ausschluss der Luft. Koch zeigte, dass ein Glimmerplättchen von gehöriger Grösse auf eine Gelatineplatte gelegt, das Wachstum von Aërobiern behindert und unmöglich macht, während Anaërobier darunter gediehen. Diese erste und einfachste Methode des Luftabschlusses ist jedoch nicht sicher; mit der Zeit diffundiert die Luft unter die Glimmerscheibe.

Weniger möglich ist das, wenn man die ganze Platte mit Glimmer belegt; ganz sicher aber, gibt Sanfelice (Z. 14. 345) an, lässt sich eine auf die Platte gegossne Agar- oder Gelatineschicht unter Luftausschluss bewahren, wenn man eine andre sterilisierte Glasplatte darauf deckt, wobei man Sorge trägt, die Luft durch Druck zu entfernen. Um die zwischen beiden Platten befindliche Nährbodenschichte wird dann Gelatine gegossen, der man ein wenig von einem Antiseptikum zugesetzt hat. Sollen Kolonien aus der Mitte geholt werden, so hebt man die eine Platte wieder ab.

In der Tiefe des Nährbodens versuchte zuerst Gaffky (K.M. 1. 91) die Bazillen des malignen Oedems (bei Brutschrankwärme) zur Entwicklung zu bringen, indem er ein Stückchen einer von ihnen durchsetzten Mausleber ins Innere einer gekochten Kartoffel brachte und die Höhlung mit Kartoffelmasse wieder verschloss. In der Tiefe von festen durchsichtigen Nährmitteln (Nährgelatine, -Agar) glückte es in der Folge W. und R. Hesse, Kulturen derselben Bazillen aus dem Unterhautzellgewebe der Maus zu erzielen (D. 85. 63).

Daraus entwickelte sich die Methode der Züchtung von Anaërobiern „in hoher Schicht“ des Nährbodens (Liborius Z. 1. 119): Ueber die durch Auskochen möglichst von Luft befreiten Nährboden wird nach der Impfung eine Schichte ausgekochten Oels oder Nähragars oder -Gelatine gegossen.

Aber auch ohne solche Ueberschichtung gelingt es, obligate Anaërobier, die überhaupt in unsern Nährmitteln zum Wachstum schreiten, mit Leichtigkeit in Stichkulturen zu züchten, seitdem wir den vorteilhaften Einfluss des Zusatzes reduzierender Substanzen durch Kitasato und Weyl (Z. 8. 41) kennen gelernt haben. Von derartigen chemischen Körpern eignen sich am besten indigschwefelsaures Natron und ameisensaures Natron; der günstige Einfluss, den schon Liborius bei Zuckergehalt des Nährsubstrates auf die Anaërobier beobachtet hatte, beruhte ebenfalls auf der reduzierenden Wirkung dieses Kohlehydrates, die freilich die der andern Stoffe nicht erreicht.

Rollplatten lassen sich leicht unter anaërobiotische Bedingungen bringen, wenn man den Hohlraum nach erfolgter Erstarrung mit dem flüssig gemachten Inhalt eines zweiten ungeimpften Gelatineröhrchens ausfüllt. Nur muss man dabei das erste in ein Glas mit Eiswasser stellen, damit die erstarrte Schichte nicht durch die warme flüssige Masse wieder abgespült wird (v. Esmarch Z. 1. 301). Schill nahm zwei ineinander geschobne Reagensröhrchen; das engere wird mit einem fest eingedrückten Wattestopfen versehen, das weitere äussere mit einem Wattebausch mützenartig bedeckt. Nachdem beide sterilisiert, wird der Wattebausch abgenommen, der Wattestopfen des engern mit einer Kornzange gefasst und mitsamt dem Reagensglas herausgezogen; dieses darf jedoch mit keinem andern Gegenstande in Berührung kommen. Alsdann wird Gelatine ins weitere Glas gefüllt, geimpft und das engere wieder eingeschoben. Die auf diese Weise, wie in einer Rollplatte, in dünner Schichte zwischen den beiden Röhrchen ausgebreitete Gelatine wird durch Aufsetzung des Wattebausches vor Verunreinigungen geschützt. Um zu den gewachsenen Kolonien zu gelangen, schneidet man aus dem äussern Reagensglas mit dem Diamant kleine Scheiben aus (C. 5. 338).

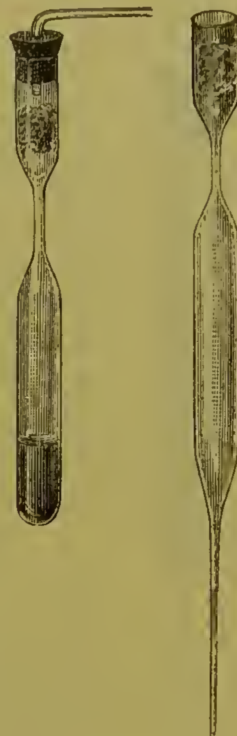
Endlich gestattet die Kultur in frischen Hühnereiern (S. 94), unter Luftausschluss zu arbeiten. Wegen ihrer Undurchsichtigkeit ist natürlich peinlichste Aufmerksamkeit nötig, um zufällige Verunreinigungen ferne zu halten. Um die Diffusion der Luft gänzlich auszuschalten, muss man sie nach der Impfung allerseits mit Lack überziehen.

2. Die mechanische Entfernung der Luft kann mittels Luftpumpe geschehen. Gruber verfuhr folgendermassen: Grosse Reagensgläser werden zu einem 5 cm langen, 3—4 mm weiten Hals ausgezogen, so dass das Rohr vom zugeschmolzenen Ende bis zum Halse etwa 15 cm, das offene Rohrstück über dem Halse etwa 5—6 cm Länge misst. Mittels Kapillartrichters wird die Gelatine eingefüllt dazu noch 1—2 ccm Wasser (auf 10 ccm) wegen der später erfolgenden Verdunstung ein Wattepfropf aufgesetzt und im Dampf sterilisiert. Nach der Impfung wird über den Wattestopfen ein Kautschukstopfen gesetzt, durch den ein knieförmiges, mit einer kräftig wirkenden (Wasserstrahl-) Luftpumpe verbundnes Glasrohr geht (Fig. 77). Während diese wirkt, steht das Rohr mit seinem untern Abschnitt in warmem Wasser von 30—35°; Befächlung des Halsteiles mit einer Bunsenflamme beugt der Benetzung des Wattestopfens durch die aufschäumende Gelatine vor. Nach 1/4 Stunde wird der verengte Teil abgeschmolzen. Um weitere

Aufschäumung zu vermeiden, soll die Abkühlung nur eine allmähliche sein. Fängt die Gelatine an zähflüssig zu werden, dann nimmt man die Ausrollung an der Innenwand des Glases vor (C. 1. 367).

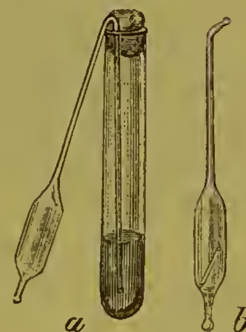
Einfacher ist es, die Luft durch das vorher ausgekochte Nährsubstrat zu verdrängen. Roux saugte die flüssige Gelatine in ein pipettenartiges Gefäss (Fig. 78), das oben und unten zugeschmolzen wurde. Zur Impfung eröffnet man ein zugeschmolznes Ende wieder und schmilzt abermals ab (P. 1. 58).

Fig. 77. Fig. 78.



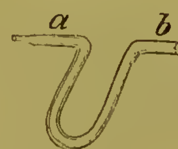
In ähnlicher Weise verfuhr Nikiforoff, nur nahm er die Füllung mit Bouillon, Gelatine, Milch u. dgl. andersartig vor (Z. 8. 489). Ein Reagensröhrchen wird zu beiden Seiten in einem Abstand von 3—5 cm zu je einer gleichmässig dünnen, etwa 1 bis 2 mm im Durchmesser haltenden Röhre ausgezogen. Die untere Kapillare wird 3—4 cm vom weitern Teile entfernt abgeschmolzen, und die obere, etwa 25 cm lange, in einer Entfernung von 8—10 cm umgebogen, nach vorgängiger Erwärmung der Luft etwas warmes steriles Wasser einströmen gelassen und in ähnlicher Weise mit dem Nährsubstrat gefüllt: Das umgebogne Kapillarrohr wird zunächst dicht über die Oberfläche der in einem Reagensglase befindlichen, heissen Nährlösung gehalten, das im Rohre befindliche Wasser zum Kochen gebracht, bis es fast verdampft ist, und dann das Kapillarrohr in die heisse Nährflüssigkeit getaucht (Fig. 79a), die alsbald ins Kulturgefäss stürzt, worauf die Abschmelzung des umgebognen Teiles erfolgt. Zur Impfung wird das abgeschmolzne Ende wieder abgebrochen, ein kurzes, ganz feines, mit dem Impfmaterial gefülltes Haarröhrchen eingeführt, mit der Platinnadel weiter geschoben und das Ende von neuem zugeschmolzen (Fig. 79b). Diese Hantierung ist freilich einfach, aber die Herstellung, namentlich die Füllung des äusserst zerbrechlichen Röhrchens recht umständlich.

Fig. 79.



van Senus hebert das bereits geimpfte, flüssige oder verflüssigte Nährmedium in eine U-förmige Röhre von etwa 6 mm Durchmesser und 1 m Länge, deren eines Ende zugespitzt (Fig. 80a) in den Nährboden eingetaucht, während am anderen Ende (b) wo ein Wattepfropfen sitzt, gesogen wird. Der gebogne Teil ist dabei nach aufwärts gerichtet. Hat die Flüssigkeit den krummen Teil erreicht, so dreht man diesen herunter, wobei sie weiter von selbst überhebert; dann schmilzt man die Spitze von a zu (C. 12. 144).

Fig. 80.



3. Die Entfernung des Sauerstoffes der Luft auf chemischem Wege ist ein sehr vorteilhaftes Verfahren Buchners: Auf den Grund eines grössern Reagensglases von etwa 22—24 cm Länge und 3 cm Weite kommen 1 g Pyrogallussäure, dazu 10 ccm einer

Lösung von 1 Teil Kalilauge in 10 Teilen Wassers, dann ein kleines Drahtgestell, auf dem das bereits geimpfte Kulturröhrchen Platz nimmt. Dann wird das äussere Rohr durch einen neuen, elastischen, fest schliessenden Kautschukpfropf, den man zweckmässig an seinen Seitenwandungen etwas benetzt, luftdicht verschlossen. Schon bei Zimmerwärme, besonders aber bei 20° und darüber erfolgt die Sauerstoffabsorption genügend rasch (C. 4. 149). Man kann auch, wie ich es that, eine Anzahl Reagensröhrchen, namentlich kleinere (100 : 13 mm) gleichzeitig der Anaërobiose aussetzen, wenn man sie in ein grösseres Präparatenglas mit gut eingeschliffenem und etwas gefettetem Deckel auf eine Unterlage von Watte stellt, unter der sich die Pyrogallollösung befindet. Die Abnahme des durch die Luftverdünnung festgehaltnen Deckels gelingt ohne Schädigung der Kulturen leicht, wenn man für kurze Zeit eine Erwärmung mittlern Grades im Wasserbade einwirken lässt. Manchmal macht sich bei dem sonst ausgezeichneten Verfahren Buchners die Eintrocknung des Nährmittels störend bemerklich. Der Nachteil wird aber durch die Einfachheit, Billigkeit und Raschheit der Ausführung reichlich aufgewogen.

Fig. 81.



Die Pyrogallolmethode gestattet am leichtesten, Kulturen im hängenden Tropfen unter Sauerstoffausschluss anzulegen. Nach Nikiforoff kann man dabei folgendermassen verfahren: Wenn ein hängender Tropfen in der gewöhnlichen Weise gefertigt ist, wird das Deckglas erst nach rechts auf die Seite geschoben und mit einer Platinöse ein Tropfen starker Pyrogallollösung an die Berührungsstelle von Deckglas und Objektträgerausschliff gethan, dann nach links geschoben und in derselben Weise ein Tröpfchen Kalilauge hingebracht. Ist das Deckglas wieder in seine ursprüngliche Stellung gekommen, so lassen sich beide Tröpfchen durch leichte Neigung vermischen, ohne dass der hängende Tropfen damit in Berührung tritt. Nach der Herausnahme aus dem Brutschrank bilden sich Wassertröpfchen, die ein solches Zusammenfliessen bewirken können. Nikiforoff schlug zur Vermeidung dessen vor, entweder F. E. Schultzesche Objektträger (Fig. 82)

Fig. 82.



oder solche mit in der Peripherie des Hohlraums eingeschliffener Rinne zu benützen; die zentral stehen bleibende Glassäule muss bei ihnen so niedrig sein, dass zwischen ihr und dem Deckglas der hängende Tropfen noch Platz hat.

Braatz (C. 8. 520) verwendet Objektträger, die mit einem offen in den hohlgeschliffnen Raum mündenden, kleinen Behälter verbunden sind. Hier hinein wird die alkalische Pyrogallollösung gefüllt — etwa 5 g —, während das Deckglas ausser mit Vaselin auch noch mit einer geschmolznen Mischung von 5 Tl. Wachs + 1 Tl. Lanolin dicht aufliegt.

Die Buchnersche Methode für Plattenkulturen zu benützen, versuchte Trambusti (C. 11. 623) mit einem konisch zulaufenden Kölbchen, in dessen Hals luftdicht eingeschliffen ein von oben verschliessbarer Cylinder steht, in diesen

stülpt sich von unten ein röhrenförmiger Fortsatz, um den die Absorptionsflüssigkeit gegossen wird, die den Sauerstoff aus dem Kölbchen eben durch diesen Fortsatz an sich zieht. Die konische Form aber vereitelt die bei der Plattenkultur so wichtige Mikroskopierung und Abimpfung.

4. Der Ersatz der Luft durch ein unschädliches Gas und zwar durch Wasserstoff (Hauser) ist, nachdem sich andre Gase, wie Kohlensäure, Leuchtgas oder einzelne seiner Bestandteile unter andern nach den Untersuchungen von C. Fränkel (Z. 5. 333), Frankland (Z. 6. 13), Kladakis (Cr. 8. 23) als ungeeignet, weil für die Mikroorganismen schädlich, erwiesen hatten, neben dem Pyrogallolverfahren das beste, hat nicht den Nachteil, die Nährmittel auszutrocknen und ist am allgemeinsten verwendbar, namentlich auch für Plattenaussaaten. Man bedient sich deshalb seiner weitaus am häufigsten, und zahlreich sind die dazu ersonnenen Methoden und Apparate. Von den Einwänden Hueppes, dass das Gas nicht sicher und für alle Bakterienarten indifferent ist, dass es zu sekundären Umsetzungen und dadurch zu Störungen führe, dass es endlich über die Gasbildung seitens der Mikroorganismen kein Urteil zulasse, ist nur der letztere berechtigt, wenn auch für die Mehrzahl der Untersuchungen nicht einschlägig.

Fig. 83.

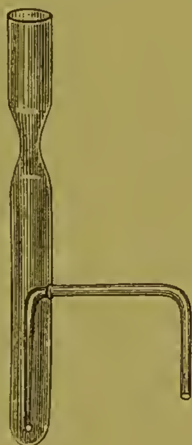
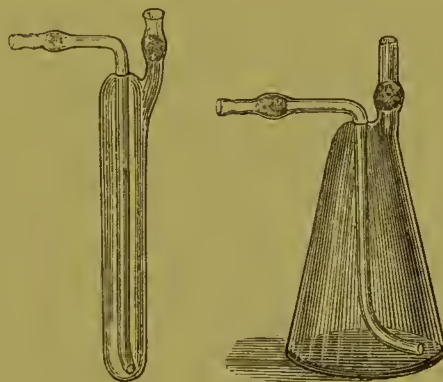


Fig. 84.



Von G. Hauser, unter Verwendung von Gläsern mit seitlichem Ansatz zuerst geübt, hat Liborius die Wasserstoffdurchleitung in Röhrchen obenstehender Form vorgenommen. Die etwas kostspielige Vorrichtung (Fig. 83) ist jetzt nur wenig mehr in Gebrauch, da andere ihr den Rang abgelaufen haben.

Die eine wurde fast gleichzeitig von Hueppe (Methoden S. 263) und C. Fränkel (C. 3. 763) unabhängig voneinander angegeben. Auf ein Kölbchen oder grösseres Reagensglas, beschickt mit dem geimpften Nährmaterial, wird ein doppelt durchbohrter Gummistopfen recht fest aufgesetzt, eine lange und eine kurze Glasröhre, die aussen umgebogen sind, durchgeführt und nun durch die erstere Wasserstoff eingeleitet; nach 3—5 Minuten werden beide Röhrchen abgeschmolzen. Zur Sicherheit erhält der Kautschukstopfen mit den benachbarten Glasteilen einen Paraffinüberzug. Festwerdende Nährboden können zur Rollplatte verarbeitet werden.

Nach ähnlichem Grundsatz haben Petri und Massen (K. A. 8. 314) Glasgefässe fertigen lassen, bei denen Zu- und Ableitungsrohr ange-

blasen sind (Fig. 84). Der Verschluss geschieht nicht durch Abschmelzung, sondern durch Kautschukstopfen am Ausführungs-, durch Gummischlauch mit Glasstab am Einführungsrohr. Dieses Glasstäbchen liegt während der Gasdurchleitung lose, ohne den Gasdurchgang zu hindern, in einem Glasröhrchen, das, in den Gummischlauch eingeschaltet, ihn in einen kurzen zentralen und langen peripheren Abschnitt zerlegt. Im peripheren Teil des Zuleitungsrohres steckt locker ein dünneres, aber starkes zweites Glasröhrchen, das ins erste hineinragt und dazu dient, das Glasstäbchen in den zentralen Abschnitt hinein bis dicht an die Einmündung ins Kulturgefäss vorzuschieben, nachdem am Ausführungsrohr der Kautschukstopfen aufgesetzt ist (Fig. 85). Hierauf werden die beiden ineinandersteckenden Glasröhrchen entfernt, denn der endgültige Verschluss ist fertig. Zur grösseren Sicherheit können der Gummischlauch mit dem Einführungsrohr und der Kautschukstopfen samt dem Ausführungsrohr einen Ueberzug mit Kollodium erhalten.

Fig. 85.



Jenes soeben geschilderte Prinzip hat Novy von einzelnen Kulturgefässen auf Flaschen angewendet, in denen mehrere Kulturröhrchen zugleich Platz finden. Die einfachste, mit vorhandnen Mitteln unschwer herstellbare Anordnung ist folgende: Eine Flasche mit weitem Halse wird auf dem Boden mit Watte bedeckt, worauf die Reagensgläser zu stehen kommen, und der Verschluss mit doppelt durchbohrtem Kautschukstopfen bewerkstelligt, durch den ein innen verlängertes Gaszuleitungs- und ein kurzes Gasableitungsrohr führt. Beide Rohre sind aussen rechtwinklig umgebogen und tragen je einen Glashahn. In vervollkommneterer Weise wird die Flasche mit zweckmässig durchbohrtem Glasstopfen und seitlich an den Hals angebrachten Glashahnröhren von Greiner & Friedrichs (Stützerbach in Thüringen) geliefert. Die Flaschen eignen sich nicht bloss für Züchtung unter Gasen, sondern auch für das Pyrogallolverfahren und für die Züchtung unter Luftausschluss im Vakuum (C. 14. 581).

Eine andere Methode ist von Roux (P. 2. 58) mitgeteilt und von mir verbessert worden, erstens hinsichtlich der Verbindung des Gasentwicklers mit dem Zuleitungsröhrchen (um es vor dem Zerbrechen zu schützen), zweitens insofern, als die für das spätere Abschmelzen nötige Verengerung am Reagensglas erst nach der Impfung des Nährmaterials gemacht wird.

Die Impfung kann in der gewöhnlichen Weise stich- oder strichförmig geschehen, oder es werden, wenn Rollplatten beabsichtigt sind, die Verdünnungen in der S. 107 f. (Fig. 65) dargestellten Weise vorgenommen. Alsdann verenge ich jedes Reagensglas etwa 1 cm unterhalb seiner Mündung in der Flamme bis zu 2—3 mm lichter Weite, setze den während dieser Hantierung beiseite gelegten, von einer Klemmpinzette gehaltnen und flüchtig abgesengten Wattestopfen wieder auf

und ziehe ein Glasröhrchen zur Kapillare aus, die etwas länger als das Reagensglas sein muss. Diese frisch bereitete und daher sterile Kapillare stecke ich mit dem weiten Ende in den Ausführungsschlauch des Kippschen Apparates, die Kapillare selbst führe ich in das vorhin verengte Reagensglas ein, dessen Wattestopfen jetzt dauernd fortbleibt. Das Reagensglas stelle ich in ein Becherglas, dessen Boden mit Watte belegt ist. Nun öffne ich die Wasserstoffzuleitung und lasse das Gas 5—10 Minuten über oder durch das Nährmittel streichen; während dies noch der Fall ist, halte ich das Reagensglas unten mit der Hand, oben mit der Pinzette über die Flamme und schmelze den verengten Hals mitsamt der Zuleitungskapillare ab. Nur bei beabsichtigter Anlegung von Rollplatten empfiehlt es sich, das Haarröhrchen kurz vorher herauszuziehen.

Die Vorbereitungen und Hantierungen will ich nun in ihren Einzelheiten beschreiben (s. dazu Fig. 86).

1. Die Herrichtung des Wasserstofferzeugungsapparates erfolgt in der S. 133 ff. angegebnen Art und Weise. Eine Schilderung erheischt hier aber noch die besondre Vorrichtung am Ende der Gasleitung, die ich anbrachte, um die schwache Kapillare während der Gasdurchströmung und dem Akte des Abschmelzens vor dem Zerbrechen zu bewahren. Wie in der Abbildung ersichtlich, hängt der etwa 20 cm lange Ausführungsschlauch an dem einen Schenkel eines doppelt knieförmig gebognen Glasrohres, das von der an einem Stativ befestigten Klemme festgehalten wird. Der andre Schenkel ist durch einen etwa 45 cm langen Gummischlauch mit der letzten (Pyrogallol-) Waschflasche verbunden und trägt in seinem Verlaufe einen Schraubenquetschhahn (Fig. 35 c) zur Absperrung oder Regelung des Gasstromes, die sich damit weit feiner bewirken lässt, wie mit dem Glashahn des Apparates selbst. Ehe der Apparat für die Anlegung der Kultur in Thätigkeit tritt, müssen jedesmal für einige Minuten Glas- und Quetschhahn völlig geöffnet sein, damit nirgends mehr eine Spur Luft bleiben kann. Danach schliessen wir lediglich den Schraubenquetschhahn, um allenfalls vorhandene Undichtigkeiten noch rechtzeitig zu erkennen (s. S. 135). Erst dann kann das zur Kapillare ausgezogne Röhrchen in den Ausführungsschlauch gesteckt werden.

2. Die Herstellung der Kapillare geschieht unmittelbar vor Gebrauch aus einem etwa 10 cm langen, 3 mm im Lichten weiten Glasröhrchen, dessen Ränder beiderseits in der Flamme rund geschmolzen sind. Ist Erkaltung erfolgt, so wird sie hier mit drei Fingern einer Hand gefasst und mit ihrer Mitte in die Spitze der Flamme des Bunsenbrenners gehalten, bis die Glasmasse ringsum erweicht ist; statt sie nun sogleich auszuziehen, schiebt man erst beide Hälften etwas gegeneinander um die Glasmasse zu verdichten, damit später die Kapillare nicht zu dünn gerate. Dann aber nimmt man sie aus der Flamme und zieht ausserhalb der Flamme mit recht ruhigem gleichmässigem Zuge die beiden Hälften auseinander, so dass eine etwa 40 cm lange, aber nicht zu dünne (lieber kürzere) Kapillare entsteht. Mit dem Diamant oder einer Schere schneidet man in der Mitte durch, während eine Hälfte im Schraubstock oder von einer zweiten Person festgehalten wird. So erhält man zwei Kapillaren, von denen die eine aufrecht auf einen daneben stehenden Platindraht gesteckt wird; bleibt sie nicht zu lange der Luft ausgesetzt, so kann sie, durch mehrmalige Durchziehung durch die Flamme (ohne zu schmelzen!) sterilisiert, für eine folgende Anaërobenkultur benützt werden. Die andere braucht man nur an der Stelle, wo die Schere ansetzte, behufs Sterilisierung an ein recht kleines Flämmchen vorsichtig zu halten (nicht zuschmelzen lassen!), dann wird sie in den Ausführungsschlauch gesteckt, ohne mit einem andern Gegenstande in Berührung zu kommen, als mit dem Kulturröhrchen, in das man sie einsenkt.

3. Die Verengerung des bereits geimpften Kulturröhrchens geschieht also: Der Wattepfropf wird mit einer Klemmpinzette abgenommen und isoliert beiseite gelegt. Dann fasst man das Röhrchen unten, hält es möglichst wagrecht, lässt 1 cm unterhalb der Mündung die Flamme des Bunsenbrenners (Gebläse entbehrlich) einwirken und dreht es nach und nach bis das Glas ringförmig weich geworden ist. Eine Pinzette schützt dabei den Rand durch sanfte

Unterstützung vor dem Herabsinken; sie darf nur einen kaum merklichen Zug ausüben, sonst würde das Glas zu dünn geraten und könnte nach dem späteren Abschmelzen leicht einen Riss bekommen. Ist die Verengerung des Halses bis auf 2—3 mm lichter Weite gediehen, so fasst man den obern Rand mit der Pinzette, das untere Ende des Röhrchens mit der linken Hand und hält es ausserhalb der Flamme senkrecht, damit der Hals eine ganz gerade Richtung bekommt. Dann setzt man den vorher flüchtig abgesengten Wattepfropfen, wenn die H-Einleitung nicht sogleich folgt, wieder auf und stellt das Röhrchen einstweilen beiseite.

4. Die Einleitung des Wasserstoffgases muss sich bei festem Nährboden (schräg erstarrter Gelatine, Agar, schräg durchschnittenen Kartoffelcylindern etc.) auf eine Ausspülung der Luft, auf eine blosse Ueberleitung beschränken. Das Kulturröhrchen steht dabei auf Watte in einem Becherglase und die Kapillare muss bis zum tiefsten Punkt des Binnenraumes reichen*). Anaërobiotischen Bedingungen ist dadurch vollständig Genüge geleistet. Auch bei flüssigen oder verflüssigten Nährmitteln — Gelatine muss während der Gaseinleitung in warmem Wasser von 30—40° stehen — nehme ich 5—10 Minuten lang lediglich die Ueberleitung vor, indem ich das Ende der Kapillare durch geeignete Hoch- oder Tiefschiebung der Klemme mit dem knieförmig gebognen Rohr am Stativ oder nur durch Verschiebung des im Becherglase befindlichen Reagensglases nach der Seite, so einstelle, dass es etwa 1 mm über dem Kulturmittel steht. Erst ganz zum Schlusse senke ich das Haarröhrchen bis auf den Boden ein, während ich durch gleichzeitige Einstellung des Schraubenquetschhahnes einem zu raschen und stürmischen Blasengang vorbeuge. Vornehmlich Gelatinelösungen werden sonst zu allzu reichlichem Schäumen gebracht und selbst durch Erwärmung des obern Teiles des Röhrchens lassen sich die Blasen nicht immer in der gewünschten Weise zum Platzen bringen. Während dann noch das Gas durch die Nährlösung streicht, nehme ich das Röhrchen in die Hand und schmelze es über der Flamme ab.

5. Die Abschmelzung darf nicht erfolgen, ehe man sich nicht überzeugt hat, dass im verengten Halse keine Feuchtigkeit, kein Tau mehr vorhanden ist. Ist das — wie gewöhnlich — der Fall, so wärmt man mittels flüchtiger Ziehung durch die Flamme sachte vor, bis vollständige Trocknung eingetreten ist, dann erst wird abgeschmolzen, während eine Pinzette den Rand der Mündung fasst, und nach vollständiger Erweichung des Glases vom möglichst wagrecht gehaltnen Röhrchen wegzieht. Fast regelmässig fängt dabei das Wasserstoffgas Feuer. Das schadet jedoch nicht; denn trotzdem dass das Haarröhrchen in dieser sehr heissen Flamme alsbald erweicht, strömt immer noch genügend Gas durch bis zum letzten Augenblick, wo die Abschmelzung vollendet ist. In der Fig. 86 steht links in einem Bechergläschen neben dem Platindraht mit dem aufgesteckten Reservehaarröhrchen und einem Reagensglase mit verengtem Halse auch ein bereits abgeschmolznes Kulturröhrchen. Hinter den Waschflaschen habe ich eine Schale mit inliegendem Pinsel aufgestellt, der in heisses verflüssigtes Paraffin taucht, um Undichtigkeiten an der Leitung oder den Gläsern damit überziehen zu können. Dies muss auch geschehen an der durch das Abschmelzen entstandnen Spitze, die nicht selten dort ein ganz feines, kaum wahrnehmbares Risschen bekommt, wo innen das Haarröhrchen anliegt. Es empfiehlt sich, in einem solchen Fall noch eine zweite Kultur anzulegen. Damit diese allenfalls entstehende Undichtigkeit nicht übersehen wird, betrachte man einige Sekunden oder Minuten nach der Abschmelzung das Kulturröhrchen genau an der bezeichneten Stelle.

Will man diesen Nachteil ganz vermeiden, so ziehe man das Haarröhrchen im letzten Augenblick vor dem Abschmelzen überhaupt heraus; nur muss man dann auf eine stärkere Benetzung der Innenwand des Halses gefasst sein und trotz-

---

*) Bei nicht der Verflüssigung ausgesetztem Nährboden dreht man vorteilhaft das Reagensglas um, lässt etwaiges Schwitzwasser ablaufen, leitet von unten einige Minuten H ein und verschliesst von unten fest mit einem keimfreien Gummistopfen, der sicherheitshalber noch paraffiniert werden kann (Fuchs, C. 7. 635). Blücher (Z. 8. 505) setzte derartige Kulturen ohne Wattepfropf mit der Mündung nach unten in ein zur Hälfte mit verdünntem Glyzerin gefülltes Becherglas, leitete mittels U-förmig gekrümmten Glasrohres H ein und bewahrte das Glas in dieser Lage auf. Nicht so einfach ist es, wie Hesse (Z. 11. 237) thut, Quecksilber als Absperrungsflüssigkeit zu nehmen, das sich in einem kleinen Porzellantiegel befindet, weil dabei das Reagensglas festgehalten werden muss; das geschieht mit einem Wattebausch und engem Becherglase.

dem die Abschmelzung rasch vollziehen, damit der Wasserstoff nicht fortgeht und nicht Luft an seine Stelle tritt.

Sind Rollplatten beabsichtigt, so muss jedesmal das Haarröhrchen herauskommen, weil es eine Verteilung der Gelatine an der Wand stört. Das herausgezogne Haarröhrchen wird gleich nachher in der Flamme zerstört.

Fig. 86.



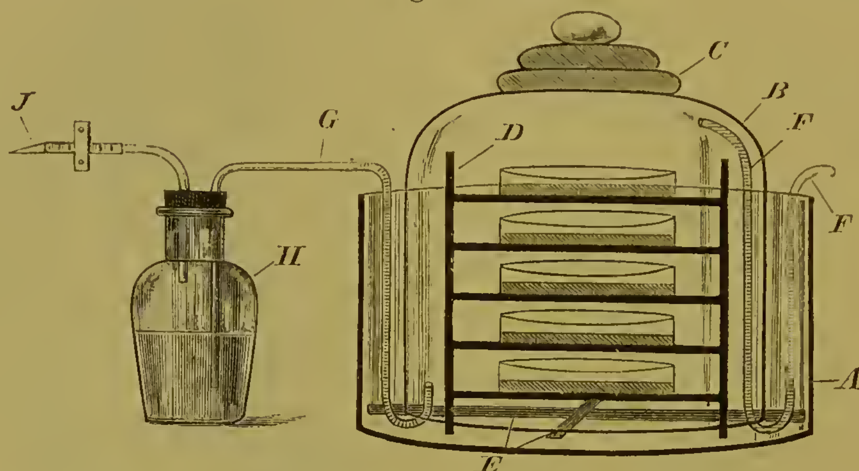
6. Bei der Oeffnung des Kulturröhrchens zur Abimpfung und Untersuchung verfährt man wie folgt: Sehr vorsichtig, ohne das spröde Glas zu sehr zu drücken, wird ein nicht zu seichter Ritz mit einer Feile oder (besser) mit dem Diamant gemacht. An der eingeritzten Stelle setzt man eine glühende Sprengkohle an, die fortwährend angeblasen wird. Es entsteht dann bald ein Sprung, an dessen Ende man abermals die Sprengkohle ansetzt u. s. f. bis der Sprung rings ums Glas läuft. Nun muss ein leeres, steriles Reagensglas mit sterilisiertem Wattestopfen und ein Topf mit Wasser bereit stehen. In den Topf wirft man die abgebrochene Kuppe nebst anhängendem Haarröhrchen zum späteren Auskochen. Vom Reagensglas nimmt man den Wattestopfen und setzt ihn aufs Kulturröhrchen. Rollröhrchen müssen durch Fassen mit Holzklemmen vor dem Erweichen der Gelatine seitens der Handwärme geschützt werden. Man achte auf den ausströmenden Geruch der Anaërobenkultur!

Von den verschiednen Versuchen, Plattenkulturen unter Wasserstoff der Anaërobiose auszusetzen*), ist die Anordnung, wie sie Botkin (Z. 9, 383) traf, unstreitig die zweckentsprechendste. Auf dem Boden einer tiefen Schale A liegt ein bleiernes Kreuz E, auf dem eine mit Bleirohr (C) beschwerte Glasglocke B ruht, so dass zwischen

*) Liborius (Z. 1. 28); Blücher (Z. 8. 500); Hesse (Z. 11. 238).

dem Boden und ihrem untern Rand ein Spalt zur Einführung von Schlauchleitungen bleibt. Die Glocke bedeckt ein zum Tragen von mehreren Schalen eingerichtetes Drahtgestell D. Zur Füllung mit Wasserstoff wird ein U-förmig gebogner Schlauch F, wie in der Fig. 87 ersichtlich, eingeführt, der durch einen durchgesteckten, dünnen,

Fig. 87.



recht biegsamen Kupferdraht diese Form bekommt. Ein andrer, ebenso gehaltner Gummischlauch G, dessen innerer Schenkel kürzer ist, dient zur Ausströmung des Gases; an seiner äussern Mündung bringt man noch eine kleine Waschflasche H, die zur Hälfte mit Wasser gefüllt ist, an, um ohne Explosionsgefahr jederzeit durch Anzünden des ausströmenden Gases bei J prüfen zu können, ob der Wasserstoff nicht mehr mit Luft gemischt ist. Vor dem Gebrauch wird in die äussere tiefe Schale eine Absperrungsflüssigkeit und zwar Paraffinum liquidum gegossen, sodann das Gestell mit den geimpften Kulturschälchen ohne Deckel eingesetzt; an der untersten Stelle befindet sich ein Schälchen mit wässriger Pyrogallollösung. Unmittelbar bevor man den Glassturz überdeckt, werden zur Pyrogallollösung einige Tropfen Kalilauge gegeben. Nach dem Ueberdecken wird die Ausströmungsöffnung bei J durch einen Quetschhahn geschlossen und bei F Wasserstoff eingeleitet. Er entweicht zunächst durch die Sperrflüssigkeit. Nach 10 Minuten öffnet man den Hahn bei J, und prüft nach einigen weitern Minuten, ob das Gas ruhig brennt. Andernfalls muss man Abschliessung und Durchleitung wiederholen. Nach beendigter Durchleitung werden die Schläuche aus der Glocke herausgezogen.

Fig. 88.

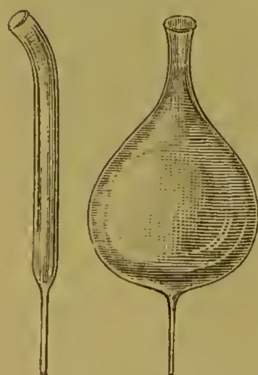


Fig. 89.



Für einzelne Platten nahm Kitasato ein plattes, birnförmiges Glasgefäss (Fig 88) mit einem weitern, aufgebognen Halse und einem gegenüberliegenden Gasausströmungsröhrchen, die beide nach Sterilisierung, Füllung mit geimpfter Gelatine und Wasserstoffdurchleitung abgeschmolzen werden (Z. 7. 227).

Roth hat das dünnere Röhrchen seitlich und gekrümmt anbringen lassen. und es zur Einleitung des Gases benützt (Fig. 89), auch die Gelatine im Gefäss

sterilisiert und dann erst geimpft. Den Verschluss bewerkstelligte er nicht durch Abschmelzung, sondern durch Ausgiessung der beiden mit Wattepfropfen versehenen Oeffnungen mittels Paraffins (C. 13. 223).

Ausserdem gibt es Schalen mit breitem Rand und aufgeschliffener Deckplatte, bei denen die Dichtung durch Vaselin erzielt wird. Schalenrand und Deckplatte haben je zwei Löcher, die, wenn aufeinander eingestellt, die Durchleitung des Wasserstoffgases durch den Binnenraum gestatten; eine leichte Drehung entfernt beide voneinander und schliesst den Raum von der Aussenwelt ab. Derartige Gefässe wurden von Gabritschewsky (C. 10. 249), sowie von Kamen (C. 12. 296) angegeben. Ersterer liess im Innern den Boden der Schale noch mit einer tiefer liegenden, kreisförmigen Rinne umgeben zur Aufnahme von alkalischer Pyrogallollösung.

Der Tierversuch

ist für Studien über Krankheitserreger, besonders für viele diagnostische Zwecke unentbehrlich. Die verschiedensten Warmblüter, selbst Kaltblüter dienen dem Bakteriologen als Forschungsobjekte, weitaus am meisten Mäuse, Ratten, Kaninchen nnd Meerschweinchen, demnächst Tauben, Hühner u. s. w.

Kleinere Arbeitstätten, in denen umfangreiche Arbeiten nicht zur Ausführung gelangen, können sich allenfalls ohne Tierstall behelfen. Die nötigen Tiere müssen dann für jeden einzelnen Fall angekauft werden, immerhin aber sind für grössere wenigstens eigene Räume erforderlich; im Sommer geht es mit einer Einfriedigung innerhalb eines Hofes oder Gartens. Man vergesse aber niemals, dass man es nach der Impfung mit kranken Tieren zu thun hat, deren Ausscheidungstoffe infektiös, deren Haare mit infektiösem Materiale besudelt sein können — z. B. bei Vorhandensein äusserlicher Geschwüre — und die, selbst wenn sie sich nicht direkt für den Impfstoff empfänglich zeigen, doch mit Infektionstoffen in Berührung gekommen sind; man beachte daher die S. 150 gegebnen Ratschläge.

Am ehesten sind in der Regel Kaninchen zu haben, da sie allenthalben gezüchtet werden. Ihre Ernährung bietet keine sonderlichen Schwierigkeiten, nur brauchen sie ziemlich viel Futter.

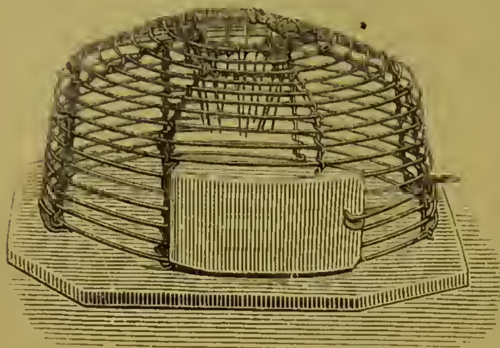
Schwieriger ist die Beschaffung von Meerschweinchen; an vielen Orten sind sie überhaupt nicht aufzutreiben, man muss daher geeignete Quellen wissen*), die aber oft unverhältnismässig teuer sind. Der Preis für ein Meerschweinchen schwankt zwischen 1—2 Mark.

Von Mäusen sind die grauen leichter zu bekommen, wie die weissen; mit den weissen ist aber weit bequemer umzugehen, da sie zahmer sind. Die wilden werden am besten in einer vor jedesmaligem Gebrauch mit heissem Wasser gebrühten und mit leicht geröstetem Speck versehenen Falle gefangen, von solcher Beschaffenheit, dass die Tierchen unverletzt bleiben. Am besten ist dies gewährleistet in einer maulwurfhügelartigen Falle, die durch eine aus konvergierend gestellten, gespitzten Drähten bestehende trichterförmige Oeffnung von oben für die Maus zugänglich ist, während ein seitliches Thürchen von Blech

*) Zufrieden war ich mit der Lieferung von L. Lechermann, München-Haidhausen, Wiener Platz 2.

zur Herausnahme der gefangenen vorhanden ist (Fig. 90). Vor der Oeffnung wird das Schwanzende der Maus mit einer Pinzette festgehalten, nachher holt die Mäusezange das Tier, an der Schwanzwurzel gefasst, heraus und überträgt es in ein Versuchsglas (s. u.).

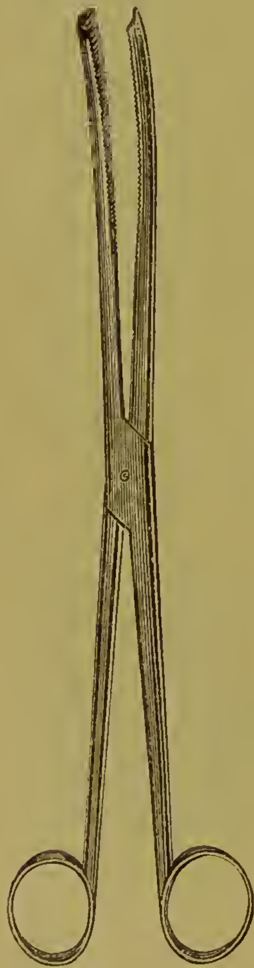
Fig. 90.



Die Mäusezange ist einer Schmelztiegelzange ähnlich, hat aber gerade, nicht ausgebogene Arme, die am Ende gerillt, nach der Fläche gekrümmt und rinnenförmig ausgehöhlt sind. Ihre ganze Länge beträgt 23 cm (Fig. 91).

Wichtig ist es mitunter, die Empfänglichkeit der Gattung mus und arvicola, d. h. der Haus- und der Feldmaus gegenüber gewissen Ansteckungstoffen zu vergleichen. Die Feldmäuse, in unsern Gegenden in manchen Jahren besonders zahlreich erscheinend, sind womöglich noch unbändiger wie die grauen Hausmäuse. Das Fassen mit der Zange muss bei ihnen besonders kräftig erfolgen, da es der Feldmaus nicht selten gelingt, unter Zurücklassung der Haut des ganzen Schwanzes in der Zange, aus der Haft zu entfliehen.

Fig. 91.



Graue Ratten, mit die wildesten der Versuchstiere, werden ebenfalls gefangen; weisse sind bei einer Anzahl von Händlern zu haben, auch aus zoologischen Gärten zu beziehen (z. B. dem in Berlin mit Genehmigung des Direktors Herrn Dr. Heck, Kurfürstendamm 8. Das Paar kostet 1 M., ein trächtiges Weibchen 1,20 M.).

Wer grössere Versuchsreihen machen will und nicht mit Sicherheit stets die nötige Anzahl Tiere am Ort haben kann, ist auf die Selbstzüchtung angewiesen.

Die **Züchtung** gelingt am erfolgreichsten mit **weissen Mäusen.**

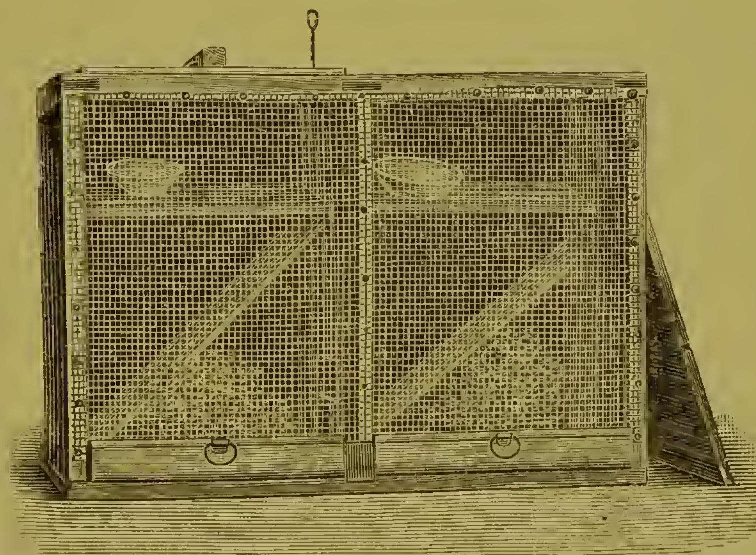
Der Tierstall soll geräumig, gut ventiliert, im Sommer nicht zu heiss, im Winter nicht zu kalt, (allenfalls geheizt) und durch Fenstergitter vor dem Eindringen von Raubtieren (Katzen u. s. w.) geschützt sein. Der Boden wird am besten zementiert. Wenn möglich soll ein grosser Auslass der Wasserleitung mit Schlauch angebracht und ein Abfluss nach der Kanalisation an einem tiefsten Punkte vorhanden sein, damit man öfters eine gründliche Spülung ausführen kann. Hat man infizierte Tiere im Stall, so dürfen die Abwässer unter keiner Bedingung offen nach aussen oder in Versitzgruben geleitet werden, ohne vorher mit Desinfektionsmitteln in gehöriger Menge und Konzentration versetzt zu sein. Der Dünger wird in Gruben oder undurchlässigen Kübeln gesammelt und zeitweilig abgefahren; (Vor-

sicht mit infizierter Streu; wenn möglich verbrennen oder mit Karbol, Saprol, Kalkmilch u. dgl. reichlich versetzen und durchtränken!).

Käfige für Mäusezucht lassen sich aus Kisten u. dgl. herstellen (Fig. 92). Sie werden mit Oelfarbenanstrich versehen. Die Vorderseite wird von einem lackierten oder verzinkten Drahtgeflecht gebildet, das 1 cm über dem Boden endigt. Durch den freibleibenden Spalt wird eine Blechwanne von der Grösse der Bodenfläche mit etwa 1 cm hohen Wänden eingeschoben; nur die Vorderbrüstung ist höher (2—3 cm) und greift aussen über den untern Rand des Drahtgitters, so fest anliegend, dass keine Maus hindurch kann. Der Blechboden wird mit wenigstens allwöchentlich zu erneuernden Sägespänen bedeckt.

Alle Ecken des Kastens werden mit Blechstreifen ausgeschlagen, weil hier die Tierchen zu nagen pflegen. Die Kasten brauchen nicht gross zu sein, wohl aber soll eine Zwischenwand eingelegt werden, die unten mit einer etwa thalergrossen, mittels Blechschieber zu verschliessen-

Fig. 92.



den Oeffnung versehen ist; behufs Reinigung werden die Tiere in eine der beiden Abteile getrieben und abgesperrt. Der Zugang zu den Käfigen ist geeigneterweise von oben; der aus der Decke herausgeschnittene Deckel liegt auf vorspringenden Blechleisten. Das Futter (Brot, Weizen, Hanf, mitunter etwas Speck, sowie ein Schälchen mit verdünnter Milch, Zuckerwasser u. dgl.) soll nicht auf den Boden gegeben werden. Es muss dafür etwa 10 cm von der Decke entfernt ein Brett vorhanden sein, wozu den Tieren mittels auf den Boden führender Leisten der Zutritt ermöglicht ist. Unterhalb des Futterbrettes legt man noch einen Büschel Stroh oder Holzwolle, worin die Mäuse gerne nisten. Als Anhalt für die ungefähre Grösse eines solchen Doppelkäfigs gebe ich die Zahlen nach Länge, Breite und Höhe 50 × 30 × 30 cm.

Von Zeit zu Zeit müssen die Käfige, deren wenigstens zwei vorhanden sein sollen, mit warmer Sodalösung und Karbolsäurelösung gescheuert werden. Sehr gut ist es, wenn man einen grössern Dampfdesinfektor zur Stelle hat, nach dem sich dann die Ausmasse der Käfige

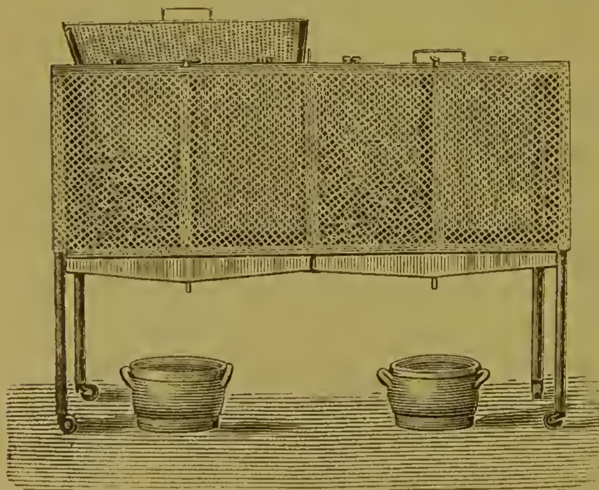
zu richten haben. Namentlich wenn, wie es vorkommt, Krankheiten unter den Tieren auftreten, ist die Desinfektion im Dampf das beste; unerlässlich ist es in solchen Fällen, die Leichenöffnung und mikroskopisch-kulturelle Untersuchung der erkrankten und getöteten, sowie der spontan eingegangenen Tiere vorzunehmen; ich versäume sie nicht, wenn binnen wenigen Tagen einige Tiere sterben; doch habe ich günstigerweise bis jetzt noch kein positives Ergebnis, überhaupt noch keine ernstere Enzootie gehabt, nur einige Zeit auffallend viele ekzematöse Hautausschläge, die nach gründlicher Reinigung und wiederholter Desinfektion der Käfige im Dampfe verschwanden.

Zur Erzielung möglichst vieler Generationen setzt man mehrere Weibchen isoliert und dazu abwechselnd mehrere Männchen. Die Männchen haben die äussern Geschlechtsteile (wegen Zwischenlagerung der Hoden) weiter — etwa 11 mm — vom After entfernt, als die Weibchen — diese etwa 7 mm. Bemerkt man bei der allwöchentlichen Umsetzung in einen anderen Käfig oder sonstwann einige trächtige unter ihnen, so werden sie in einen eignen Käfig übertragen. Die Männchen fressen gerne die lebenden Jungen an; doch thun dies selbst (meist erstgebärende) Weibchen. Die Tragzeit erstreckt sich auf etwa 16 oder 17 Tage; gewöhnlich werden 4—6 Junge geworfen; mit zunehmendem Alter weniger.

Will man einige Hecken genauer beobachten, so bringt man sie in vollständig aus Draht gefertigte Kasten. Ich habe mir solche nach Art der für die Trockensterilisierungschränke üblichen Zinkdrahtkörbe mit überfallendem Deckel, unten mit 4 Füssen aus starkem Draht herstellen lassen. Ein untergestelltes Blech fängt die durchfallende Streu auf. Ferner einen ähnlichen runden von 20 cm Durchmesser, der in eine grosse Glasschale gestellt wird.

Weisse Ratten beanspruchen grössere Käfige. Im zoologischen Garten zu Berlin habe ich einen solchen aus Drahtgitter aussen an einem Fenster angebracht gesehen, der sich auch im Winter im Freien befindet. An der einen, gegen Kälte durch Strohbekleidung geschützten Seitenwand sind übereinander Fächer angebracht, deren jedes in drei Abteile geteilt ist (Niststellen); Leitern und Stangen dienen den Tieren zum Klettern. Die Holzteile werden mit Beize überzogen und von Zeit zu Zeit reingerieben. Die Futtermenge für 80—90 Stück beträgt 1 schwarzes und 4 weisse Brote, in Milch geweicht, Körner, und 1 Pfund rohes Fleisch.

Fig. 93.



Kaninchen, Meerschweinchen u. a. grössere Tiere, bringt man in einem durch Verschlag abgegrenzten Raume unter; um jedoch Fäulnis der Streu zu verhüten, empfiehlt es sich, den Boden erhöht, luftig zu legen. Ich habe eigene Kästen aus Eisenrahmen und Gittern aus verzinktem Drahtnetz herstellen lassen (Fig. 93). Sie sind 120 cm

breit, 45 cm hoch und stehen auf vier 40 cm hohen Füssen mit Rollen. Drei Paar senkrechte Laufschienen dienen zum Einschieben von 3 Zwischenwänden, so dass 4 Abteile entstehen. Je 2 Abteile besitzen einen aufklappbaren Deckel und einen heraushebbaren Boden, ebenfalls von Zinkdrahtnetz, worauf die Streu zu liegen kommt. Unter diesem Boden ist je eine herausziehbare Blechwanne angebracht mit einem am tiefsten Punkte (vorne und in der Mitte) eingelassenen Röhrchen, wodurch der Urin in je einen untergestellten Topf fliessen kann.

Der mir zur Verfügung stehende Dampfdesinfektor bietet zwar nicht Raum für die Einstellung des ganzen Käfigs, aber wenigstens Bodenplatte, Blechwannen und Zwischenwände haben darin Platz; Seitenwände, Deckel und Gerüste werden mit heisser Soda- und Karbollösung gründlich gescheuert. Mit wenig Mehrkosten könnte man auch die Seitenwände und die Deckel abnehmbar machen, erstere in ihrer untern Hälfte noch aus verzinktem Eisenblech herstellen lassen, um der Verzettelung von Streu möglichst vorzubeugen. In der oben angegebnen Konstruktion lieferte Gitterstricker Wirth (Würzburg, unterer Mainquai) den Käfig um 45 M.

Frösche, die mitunter zu gewissen Versuchen (bis jetzt meist mit Milzbrandbazillen) gebraucht werden, kommen in einen Behälter von Zinkblech; ich habe einen runden von 40 cm Durchmesser und 22 cm Höhe herstellen lassen mit überfallendem Deckel aus starkem Drahtgeflecht, in dessen Mitte eine quadratische Deckelthüre von 14 cm Seitenlänge angebracht ist. Im Winter bedürfen sie wenig Nahrung. Sie werden mit Regenwürmern gefüttert. Geimpfte Tiere müssen in eignen kleinern Behältern gehalten werden, die entweder ebenfalls aus Blech oder aus grössern Einmachgläsern hergestellt werden. Da sich immer Wasser im Käfig befinden muss, in das die betreffenden Krankheitserreger durch die Ausscheidungsstoffe u. dgl. gelangen können, so ist besondre Vorsicht gegen Verspritzen nötig: Bedeckung des Drahtgeflechts mit Watte; Vorsicht bei der Herausnahme der Tiere!

Allgemeine Grundsätze für Herstellung jedwelcher Käfige sind: Solide Konstruktion, möglichst geringe Aufnahmefähigkeit für Feuchtigkeit, leichter Zugang zu allen Flächen und Winkeln, Möglichkeit der Abscheuerung und Desinfektion im Dampf.

Infizierte Tiere müssen unter allen Umständen getrennt von den gesunden untergebracht sein. Dagegen können mehrere mit demselben Stoffe infizierte in einem Raum zusammengehalten werden, wenn nicht besondre Versuchsbedingungen dawider sprechen; die Unterscheidung erfolgt durch Zeichnung entweder mittels Anilinfarben (bei weissen Mäusen) oder mittels kleiner keilförmig ausgeschnittner Kerben je nachdem an innern oder äussern Rande des rechten oder linken Ohres (Kaninchen), oder nach Geschlecht und natürlicher Färbung (Meerschweinchen) u. dgl.; das wird auf dem Aufschriftzettel und im Protokoll vermerkt.

Zur Unterbringung und Beobachtung der geimpften Mäuse sind becherförmige Gläser mit abhebbarem Deckel in Gebrauch. Gewöhnliche, sog. Einmachgläser von etwa 26 cm Höhe und 10 cm Durchmesser, worin 1—2 Mäuse genügend Platz finden, werden mit einem Drahtnetz von etwa 20 cm Durchmesser bedeckt, das man deckelförmig über die Ränder legt. Zur Beschwerung dienen Bleistücke

von ca. 8 cm Länge, 3 cm Breite und 1/3—1 cm Dicke (Gewicht ungefähr 200 g), die man sich selber in einer Gipsform giessen kann; zwei in die Form senkrecht, mit dem Kopf nach unten eingestellte Nägel lassen Löcher entstehen, die zum Durchziehen von Draht behufs Befestigung am Drahtnetz bestimmt sind (s. Fig. 101).

Will man die wilden grauen oder Feldmäuse aus also bedeckten Gefässen herausnehmen, so wird das Drahtgitter rasch durch ein Stück mit ein oder mehreren Löchern versehenes Eisenblech (z. B. Einsätze eines Trockensterilisierungskastens) ersetzt, die von einer Glasplatte (Kulturplatte) bedeckt sind. Nach vorsichtiger Wegschiebung der Platte von einem dieser Löcher geht die Zange ein und holt das Tier heraus.

Kitt hat (C. 2. 243) eine Vorrichtung abgebildet, die bei lebhaften, leicht entspringenden Tieren ganz praktisch, nur kostspieliger ist, wie die hier beschriebene Bedeckung.

Der Boden des Glases ist 2—4 cm hoch mit Sägespänen bedeckt. Das Futter, bestehend aus Weizen oder mit Milch und Wasser befeuchteten Brotstücken, wird unmittelbar darauf gelegt. Namentlich bei kranken Tieren ist es aber ausserdem noch nötig, ein eignes Näpfchen mit Wasser an einem geeignet gebogenen Draht in δ-Form einzuhängen. Gefässe ganz aus Drahtgeflecht sind bei infizierten Tieren unangebracht; denn sie scharren und werfen die Streu nach aussen.

Zur Reinigung wird zunächst die Streu verbrannt und dann das Gefäss, gefüllt mit (warmer, saurer) Sublimat- oder Karbollösung, 12—24 Stunden stehen gelassen, danach mit Sodalösung, Wasser und Tüchern mechanisch tüchtig gereinigt und in der Sonne getrocknet; die Deckel, sowie die verwendeten Tücher werden in 1% Sodalösung ausgekocht.

Für infizierte Kaninchen, Meerschweinchen u. a. werden nicht selten Töpfe oder Bottiche aus Eisen, Blech oder Steingut benützt, die mit beschwertem Drahtgitter oder Brettchen bedeckt sind. Gefässen aus Eisen oder Blech ist der Vorzug zu geben, weil sie die Dampfsterilisation ertragen, die nach Gebrauch stets vorgenommen werden soll. Steinguttöpfe werden wie die Mäusegläser behandelt, erfordern aber sehr viel Desinfektionsflüssigkeit und die Arbeit kann nur ganz zuverlässigem, verständigem Hilfspersonal überlassen werden. In derartigen Gefässen befinden sich die Tiere aber in ungünstigen Verhältnissen, haben nicht genug Platz, Licht und Luft und sitzen oft auf faulender Streu.

Bei weitem besser sind die oben beschriebnen Drahtnetzkäfige mit Abteilen; diese werden aber sicherheitshalber mit Holztafeln umstellt, die, wie die Umgebung des Käfigs, öfters heiss abgewaschen und desinfiziert werden sollen.

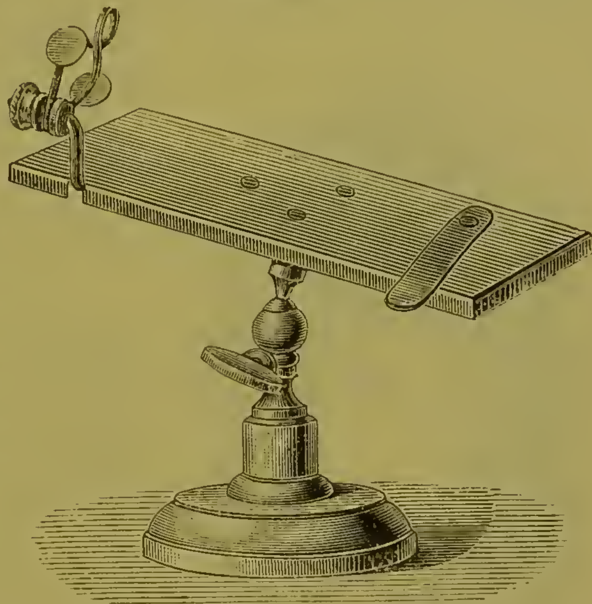
Nicht genug Vorsicht kann dem empfohlen werden, der mit infizierten Tieren umzugehen hat; die Auswurfstoffe,. Urin, Kot etc. können die krankheitserregenden Keime enthalten; ganz besonders gefährlich aber sind Tiere mit offnen, eiternden Wunden, wie sie nach subkutaner Impfung mit tuberkulösem, rotzigem etc. Material fast regelmässig vorkommen. Der ganze Pelz ist verdächtig, und wer ein solches Tier angefasst hat, muss sich sofort, ehe er mit einem andern Gegenstande (Thürklinken! u. dgl.) in Berührung kommt, aufs peinlichste desinfizieren. Man unter-

lasse nicht, die Diener und Wärter immer und immer wieder daran zu erinnern, die praktische Ausführung oft zu kontrollieren und jederzeit mit mustergültigem Beispiel voranzugehen!

Die Infektion.

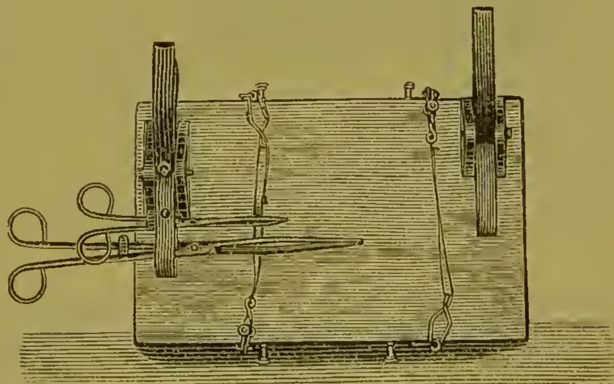
Gerätschaften: Vorrichtungen zum Halten der Tiere beim Impfen sind kaum zu entbehren. Für manche einfache Operationen kann ja ein Gehilfe das Tier halten, z. B. eine weisse Maus am Schwanz und im Nacken während einer Impfung unter die Haut oder in die Bauchhöhle; auch Meerschweinchen und Kaninchen lassen sich oft noch mit den Händen fixieren. Meerschweinchen hielt Klebs, als er ohne Assistenz Injektionen in den Dünndarm machen musste, durch Bindeneinwickelung ruhig (S. 162). Kaninchen ertragen kleinere Eingriffe, sogar ohne sich zu rühren, wenn nur ein dunkles Tuch über ihren Kopf gebreitet ist. Aber wenn man nicht durch lästige Bewegungen gestört werden will, ist eine mechanische Festhaltung unbedingt notwendig.

Fig. 94.



Für Mäuse existiert ein sehr brauchbarer Apparat von Kitasato (Z. 10. 271). Eine Blechtafel, worauf das Tierchen zu liegen kommt, lässt sich durch ein festschraubbares Kugelgelenk in verschiedne Lagen bringen. Eine Klemme für den Schwanz und eine federnde Zange für den Nacken halten die Maus entweder in der Rücken- oder in der Bauchlage fest (Fig. 96 und 101).

Fig. 95.



Ebenfalls für Mäuse verwendbar, aber vornehmlich für Ratten bestimmt ist der Impfapparat nach K. Müller (C. 13. 586). Er ist schwer, aus vernickeltem Eisen (Fig. 95) und besitzt zwei stark federnde Klemmen, deren eine den Schwanz festhält, während die andre zur Befestigung zweier Klemmkornzangen dient, womit je eine Hautfalte im Nacken und am Kinn gefasst wird. Um ein vollständiges Stillliegen des Versuchstieres zu erzielen, sind vier Fussklemmen beigegeben, die an die für jede Grösse des Tieres passenden, verstellbaren Halter an den Seiten des Apparates befestigt werden.

Zum Herausholen der Ratten aus dem Käfig kann man sich der

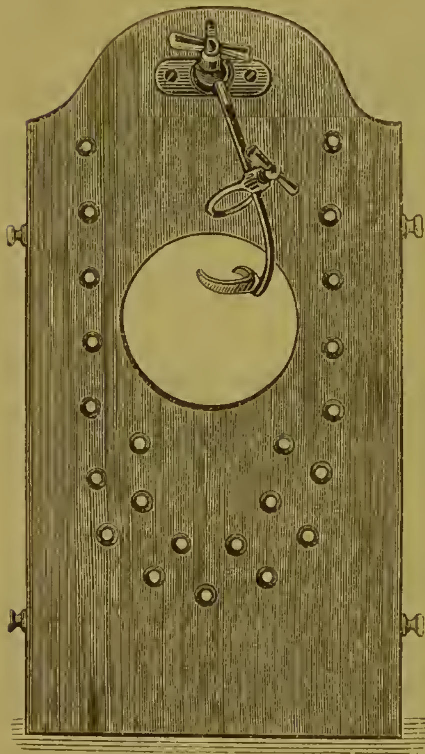
Zange mit löffelförmigen, einseitig gezackten Enden (Fig. 96) bedienen, die die Tiere am Kopfe fasst.

Fig. 96.



Für Meerschweinchen dient ein Brettchen von 37 und 29 cm Grösse auf Füsschen mit einem runden Ausschnitt von 9 cm Durchmesser im oberen Drittel und mehreren ringsum stehenden kleineren Löchern zum Durchziehen von Schnüren, mit denen das Tier festgebunden wird. Am Kopfende ist ein im Kugelgelenk verstellbarer, gebogner Arm mit einem Ring und einem hufeisenförmigen, nach abwärts stehenden Eisenteil zum Halten des Tieres im Nacken angebracht (Fig. 97 und 98).

Fig. 97.

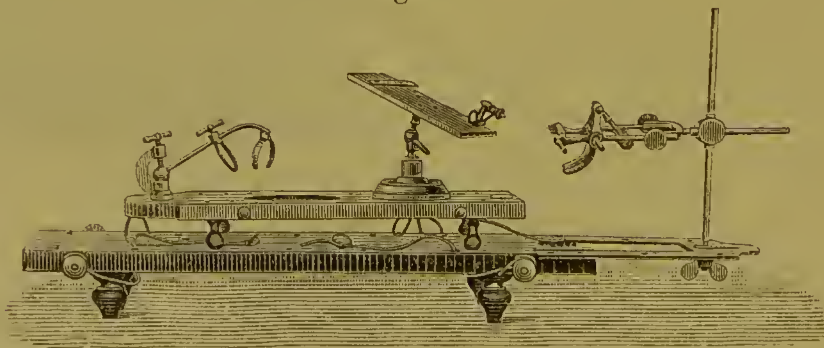


Bekannt sind die Kaninchenspannbretter mit Kopfhaltern und Trensen, sowie vier seitlichen Schrauben zum Einklemmen der die Gliedmassen spannenden Endstücke der Bindfadenschlingen.

In der Fig. 98 ist ein solches Operationsbrett für Kaninchen wiedergegeben; eins für Meerschweinchen und ein Mäusehalter stehen zur Kenntlichmachung der gegenseitigen Grössenverhältnisse darauf.

Die beiden letzteren Apparate werden bei Gebrauch noch auf ein mit erhöhten Seitenrändern versehenes grösseres Brett (quadratisch 50 cm Seitenlänge) gestellt, um den Tisch vor Verunreinigung mit Urin, Haaren, Blut etc. zu schützen.

Fig. 98.



Das weitere Instrumentarium besteht aus einer Tafelwage für 5—10 kg Belastung mit Gewichtssatz, ferner: anatomischen Pinzetten

mit breitern und mit spitzen Branchen, Irispinzetten, Fixierpinzetten, gewöhnlichen Skalpellen, Lanzenmessern, geraden und gebognen (Cooperschen) Scheren, Rasiermesser, Spritzen (s. u.), Collinschem Trepan, Hohl- und Knopfsonden, chirurgischen Nadeln, Nadelhalter, elastischen oder Nélatonschen Kathetern dünnern Kalibers, Schalen für Desinfektionsmittel, Glasröhren, Gummischläuchen, Glashahnen, Quetschhahnen, Gaze, Mull, Watte, Collodium elasticum.

Grössere Instrumente werden in Blechbüchsen zusammen im Trockenschrank sterilisiert; wenn sie heisse Luft nicht vertragen, im Dampf; kleinere werden in einem Topf oder Reagensglas (z. B. Nadeln) in 1 %iger Sodalösung ausgekocht; Verbandstoffe sind in Blechbüchsen verpackt im Dampf keimfrei zu machen.

Eine eingehendere Besprechung erheischen die **Spritzen** zur subkutanen, intravenösen etc. Injektion.

Alle Spritzen mit Stempeln und angeklebten oder aufs Glas geschraubten Metallteilen eignen sich für unsre Zwecke nicht, da sie eine Sterilisierung im kochenden Wasser oder im Dampfe nicht vertragen.

Auch die für bakteriologische Arbeiten bestimmte Kochsche Spritze ist von Nachteilen nicht frei; zwar besitzt sie keinen Stempel, sondern die Flüssigkeit wird mittels eines hinten angesetzten kleinen Kautschukballens angesogen und entleert; zur Unterbrechung seiner Wirkung ist zwischen ihm und der Spritze ein Metallhahn eingeschaltet, dessen rechtzeitige Oeffnung und Schliessung Aufmerksamkeit erfordert. An neuern Spritzen ist der Glasteil vorne konisch geformt, so dass die Kanüle direkt aufgesetzt werden kann; am Endteil aber bleibt die missliche Verbindung von Glas und Metall bestehen.

Krönig begegnete diesem Nachteil dadurch, dass er auch das Schlussstück verjüngte, so dass auf ihn ein mit Quetschhahn verschliessbarer Schlauch, der zum Ballon führt, gestülpt werden kann; ausserdem gab er dem Glasteil kurz vor dieser Endigung eine Ausbauchung, sog. Wattekammer, in die etwas Watte eingeführt wird (D. 92. 715).

Petri nahm Vollpipetten mit derart geschliffnen Ausflussöffnungen, dass die Kanülen luftdicht aufgesteckt werden können. Die Pipette wird durch einen kurzen Gummischlauch mit einem Glashahn verbunden, an dessen freiem Ende gesaugt wird. **Da man im Laboratorium niemals einen Gebrauchsgegenstand zum Munde führen soll** *), so ist irgend eine Spritze dazu nötig, was die Hantierung kompliziert. Ist die Flüssigkeit auf die Marke eingestellt, so wird der Hahn geschlossen und an sein Ende ein Doppelgebläse aus Kautschuk gesteckt, das noch bei geschlossnem Hahne mit Luft angepumpt wird. Jetzt wird die Kanüle in den Tierkörper eingeführt und der Glashahn vorsichtig geöffnet, bis die beabsichtigte Menge Flüssigkeit injiziert ist. Vor der Entfernung der Kanüle wird der Hahn wieder geschlossen. Das Verfahren nimmt beide Hände vollauf in Anspruch (C. 4. 785).

In ähnlicher Weise arbeitet eine einfachere, im Notfall improvisierbare Zusammenstellung von Tavel. Hier wird lediglich ein (graduiertes) Glasrohr mit ausgezogner Spitze benützt, dessen Ende mit einem Wattepfropf versehen ist. Die Spitze wird dem Tiere direkt unter die Haut geführt, wozu es freilich nötig ist, dass ein spitzes Instrument erst den Weg bahnt. Unter der durchstochnen Stelle wird nach Aufhebung einer Hautfalte ein Seidenfaden durchgezogen, der erst nach beendigter Impfung geknotet wird, damit vom Impfmaterial nichts zurück-

---

*) Raucher müssen ihre Zigarren oder Zigarrenspitzen immer so hinlegen, dass der brennende Teil auf dem Tische, das Mundstück frei liegt. Gegessen darf im Laboratorium überhaupt nicht werden. Befeuchtung der Finger am Munde ist streng zu vermeiden. Gummierte Etiketten dürfen nur mit Wasser benetzt werden.

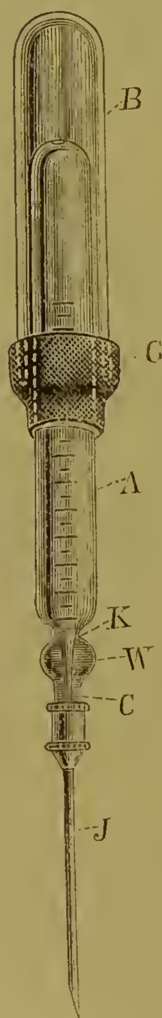
fliesst. Das Glasrohr ist durch einen mit Quetschhahn versehenen Gummischlauch mit irgend einer Spritze verbunden. Ist das Glasrohr mit dem Impfmaterial gefüllt, so wird seine Spitze unter die Haut gebracht, mit der Vorsicht, dass auch das Platysma durchgestochen wird, da die Flüssigkeit sich unter diesem leichter verbreitet, als über ihm. Die rechte Hand hält die Glasspitze und den Quetschhahn, während die linke die Einspritzung besorgt (C. 5. 550).

Schill benützte selbst die Spritze nicht, sondern nur einen etwa $^1/_4$ m langen Gummischlauch von dünner Wandstärke. „Wenn man das Glasrohr an der Gummiansatzstelle mit der linken Hand hält und die Spitze in die aufzunehmende Flüssigkeit eintauchen lässt, sodann aber mit rechtem Zeigefinger und Daumen vom Glasrohr weg den Gummischlauch unter gleichzeitigem Zusammendrücken auszieht, so wird die Flüssigkeit schnell in das Rohr eingesogen. Bei der Injektion macht man dieselbe Bewegung am Gummischlauch in entgegengesetzter Richtung" (C. 10. 661).

Alle diese und andre Modifikationen sind weitaus überholt durch die ebenso einfache wie praktische **Stroscheinsche Spritze***) (Fig. 99).

Sie besteht aus zwei Glasteilen, einer Kanüle und einem nur 1—1$^1/_2$ cm langen Stückchen Schlauch aus rotem, wenig elastischem, etwas steifem, am Glase wenig adhärentem Kautschuk, der, um leichter zu gleiten, mit etwas Wasser befeuchtet werden kann.

Fig. 99.



Das engere in $^1/_{10}$ ccm geteilte Rohr hat einen drehrund mattgeschliffenen Konus zur hermetischen Aufsetzung der Kanüle. Gleich dahinter ist eine wulstförmige Verdickung zum besseren Anfassen angebracht. Das Ende des Rohres ist kuppenförmig, besitzt aber eine kleine Oeffnung in der Mitte. Die Teilung auf der Aussenseite nimmt nur die untern $^2/_3$ der Röhre ein.

Das zweite weitere und kürzere Rohr von der Gestalt eines kleinen Reagensgläschens, wird über das erste gestülpt. Ueber seine Mündung wird zur Hälfte seiner Länge der rote Kautschuk gezogen. In die darüber vorstehende übrige Hälfte, deren Lumen immer noch etwas enger ist, wie der Durchmesser der graduierten Röhre, wird diese letztere — mit ihrer Kuppe voran — hineingeschoben, soweit, bis der mittlere Teilstrich am Rande des Kautschukschlauches angekommen ist.

Zur Füllung fasst man zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand das Rohr A an der Hohlkehle K oder dem Wulste W; zwischen denselben Fingern der rechten Hand das Rohr B, taucht die Kanüle in die Injektionsflüssigkeit und zieht B unter drehender Bewegung sachte solange nach aufwärts, bis die Flüssigkeit mit ihrem Meniskus auf dem obern oder dem gewünschten Teilstriche einsteht.

Zur Entleerung der Spritze nimmt man die Hohlkehle K zwischen Zeige- und Mittelfinger der einen Hand, setzt den Daumen auf die Kuppe von B und schiebt unter gleichmässigem, allmählich wirkendem Druck B über A nach unten. Die im Innern erzeugte komprimierte Luft treibt die Flüssigkeit aus. Man hat also bei der Injektion die andre Hand frei.

*) Mitteilungen aus Dr. Brehmers Heilanstalt. 1889.

Die Sterilisierung des Instrumentchens gelingt auf die denkbar einfachste Weise. Ich nehme einen Topf mit Einsatz, damit die Spritze nicht auf den Boden zu liegen kommt, fülle ihn mit destilliertem Wasser soweit, dass es das auf dem Einsatz liegende graduierte Röhrchen bedeckt und koche 1—2 Minuten.

Auf einem Dreifuss daneben steht über einer zweiten Flamme eine Abdampfschale mit 1 %iger Sodalösung; erst, wenn diese kocht, werfe ich die Kanüle hinein und hole sie nach 1 Minute mit einer Pinzette, die das Ansatzteil fasst, wieder heraus.

Dann stecke ich sie auf das ebenfalls mit einer Pinzette genommene, graduierte Röhrchen.

Das mit dem Kautschukschlauch armierte weitere Rohr B, das, da es mit der Injektionsflüssigkeit nicht in Berührung kommt, nicht ausgekocht zu werden braucht (es verträgt die Erhitzung weniger gut) wird nun bis zum mittlern Teilstrich darübergeschoben.

Nach der Einspritzung lege ich sofort die Kanüle für 1 Minute wieder in die kochende Sodalösung, die graduierte Röhre ebensolange ins kochende destillierte Wasser, das Rohr B mit dem Kautschukschlauch aber, wenn keine weitere Einspritzung mehr folgt, für 24 Stunden in 5 %ige Karbollösung. Dies geschieht nur, um gar keine Sicherheitsmassregel zu versäumen; denn bei vorsichtigem, nicht zu stürmischem Einsaugen der Injektionsflüssigkeit kann davon überhaupt nichts an das weitere Rohr kommen.

Soll die Spritze ausserhalb des Laboratoriums (im Krankensaal oder im Obduktionszimmer) benützt werden, so verbringe ich das ausgekochte graduierte Rohr in einem sterilisierten Reagensglas dorthin; ebenso die Kanüle in einem zweiten Reagensglase mit etwa 10 ccm 1 %iger Sodalösung, worin sie an Ort und Stelle über einer Spiritusflamme leicht wieder ausgekocht werden kann.

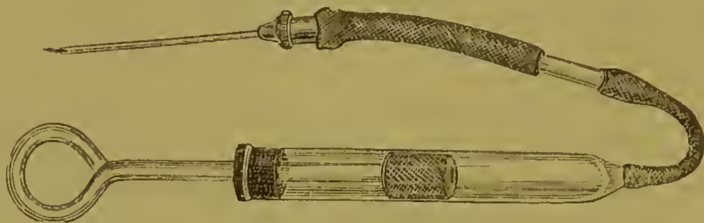
Ich habe mit ein und derselben Spritze wohl Hunderte von Injektionen gemacht und sie jedesmal vor- und nachher ausgekocht, ohne dass das Röhrchen irgend Schaden gelitten hätte, nur eine Kanüle musste erneuert werden. Ich habe wiederholt keimfreie Bouillon in die gekochte Spritze gefüllt, sie ohne weitere Bedeckung im Hause und im Freien herumgetragen und den Inhalt ins Bouillongläschen (ohne allerdings mit der Kanüle jetzt einzutauchen) entleert: es fand keine Entwicklung von Keimen statt.

Diese vorzügliche Spritze ist bei Chr. Kob & Co. (Stützerbach in Thüringen) in jeder gewünschten Grösse zu haben; am meisten gebraucht werden die 1 ccm haltenden. Ich selbst bin dadurch auf diese Firma aufmerksam geworden, und habe auch bei andern Glaswaren die Haltbarkeit ihres Materials bestätigen können.

Sollen Flüssigkeiten eingespritzt werden, die gröbere körperliche Bestandteile enthalten, so bedarf man weiterer Kanülen. Es eignen sich dazu die am Dieulafoyschen und andern Apparaten für die Thorakozentese gebräuchlichen. Da sie nicht auf die gangbaren Glasspritzen passen, so muss man sich entweder eigne (nach Stroscheinschem Muster) bestellen, oder man hilft sich, wie ich es that, durch eine Verbindung dieser Kanülen mit einer gewöhnlichen Glasspritze mittels Gummischlauchs. Der Stempel wird herausgenommen und neben die Spritze in den Topf zum Auskochen gelegt. Gewöhnlich gelingt es aber dann nicht mehr, die gequollne Fadenumwicklung des Stempels einzuschieben, man umgibt deshalb entweder von vorneherein den Stempel mit einem Stückchen passenden Kautschukschlauchs

(Fig. 100) oder man lässt den Stempel ganz weg und steckt durch den ausgekochten Kork- oder durchbohrten Gummistopfen eine sterilisierte Glasröhre mit Wattebäuschchen im Innern. An diese kann man dann eine zweite, etwas grössere Stempelspritze (ähnlich der Tavel'schen Anordnung) mit Gummischlauch anschliessen, oder einen Glashahn mit Doppelgebläse (Heim).

Fig. 100.



Alle Spritzen für quantitative Arbeiten müssen genaustens geaicht sein; neue sollte man stets nachprüfen und falsch kalibrierte nicht annehmen.

Ausführung. Die Infektion kann in verschiedner Weise vorgenommen werden und zwar:

1. In und unter die **Haut.** Zur perkutanen Infektion wird der Impfstoff unter mehr oder weniger Druck in die einwandsfrei desinfizierte Haut mit sterilisierten Gegenständen eingerieben, nachdem entweder gar keine Verletzung oder eine leichte Skarifizierung der Oberfläche stattgefunden hat. Die geeignetste Stelle ist das Ohr. Bei Schleimhäuten — sie können auch im unverletzten Zustande für Mikroorganismen durchgängig sein (Cornet) — genügt eine leichte Verletzung, wie sie z. B. in der Scheide von Meerschweinchen oder Kaninchen durch Auseinanderziehung der Labien entsteht. Einritzung der Hornhaut, an die das Impfmaterial hingebracht wird, gibt Gelegenheit, die Ausbreitung der Infektion, die sog. „Pilzfigur“ in besonders schöner Weise zu beobachten.

Zur subkutanen Applikation wird entweder eine Einspritzung gemacht, oder eine Wunde angelegt.

Um bei Einspritzungen, namentlich wo es auf quantitatives Arbeiten ankommt, keinen Tropfen zu verlieren, wird die Kanüle möglichst tief eingestochen; Mäusen wird sie zu diesem Zweck vom Nacken aus unter die Rückenhaut eingeführt und erst nach vollkommener Entleerung der Spritze und leichter Massage der vorgewölbten Partie wieder herausgezogen.

Bei einfachen Impfungen, wie sie bei Mäusen ausserordentlich häufig zur Anwendung gelangen, wird die Haut dicht oberhalb der Schwanzwurzel nach Abscherung der Haare mit der Pinzette zu einer Falte erhoben, mit der Scherenspitze ein kleiner Einschnitt gemacht (Fig. 101) und die mit dem Impfstoff beladne Platinnadel eingeführt. Sollen Organstückchen u. dgl. unter die Haut gebracht werden, so bahnt man sich erst mit der Platinnadel oder einer Knopfsonde den Weg und schiebt das Material mit einer spitzigen Pinzette hinein. In diesem Falle ist ein Verschluss der Wunde mit Kollodium ange-

zeigt. Um das Präparat rein zu halten, holt eine geglühte, abgekühlte Platinöse einen Tropfen Kollodium (elasticum)*) aus der Flasche und überstreicht die kleine Impfwunde, worauf die Oese wieder ausgeglüht wird.

Grössere Stücke werden Kaninchen und Meerschweinchen in der Weise eingebracht, dass die gut rasierte, geseifte, mit Wasser, Karbollösung, Spiritus, Sublimat, Spiritus und Aether der Reihe nach behandelte Hautstelle mit einem Skalpell oder einer Schere am Rücken oder am Bauch eingeschnitten wird. In die gebildete Tasche bringt man das Impfmaterial und schliesst, wenn die Wunde gross war, mit Naht (in 1 % Sodalösung ausgekochte Nadeln, Seidenfäden, sterile Gaze, Kollodium, Watte, Kollodium).

Fig. 101.



Vögel werden an der Brust neben dem Kiel geimpft; die Federn an der Stelle ausgerupft oder ganz abgeschnitten, dann die Haut gereinigt und desinfiziert. Das durch die Einschnittöffnung eingebrachte Material wird über den Kiel weg nach der andern Seite hinübergeschoben.

Für viele Versuche, bei denen es sich beispielsweise lediglich um die Uebertragung von bekannten Krankheitserregern, etwa Milzbrandbazillen u. s. w. handelt, ohne dass einige andre der Haut und dem Fell entstammenden Kleinwesen durch die zufällige Hineinbringung den betreffenden Versuch stören können, ist auf eine vorgängige genaue Reinigung und Desinfektion der Haut weniger Gewicht zu legen. Bei Mäusen unterlassen wir sie, wenn der Versuchzweck es nicht anders erfordert, überhaupt.

Ist aber durch die Art des Versuches eine keimfreie Einbringung nötig, so muss die Desinfektion der Operationsstelle an dem wohl ge-

*) Collodium elasticum besteht aus Collod. 94,0, Terpentinöl 5,0, Ricinusöl 1,0.

fesselten und ganz ruhig gestellten Tiere in der peinlichsten Weise durchgeführt und durch Vernähung der Wunde und Bestreichung mit Jodoformkollodium gegen ein Eindringen der Keime von aussen, soweit dies eben überhaupt möglich ist, geschützt werden.

Bei der Desinfektion der Haut hüte man sich davor, das Fell in zu grossem Umkreis zu benässen. Namentlich kleine Tiere sind gegen die dabei bewirkte Abkühlung durch Verdunstung ausserordentlich empfindlich. Mäuse, denen das Fell zum grössern Teile benetzt ist, sieht man augenscheinlich darunter leiden (etwa 10 Minuten lang gebadete Mäuse gehen leicht ein). Einige junge Kaninchen, die ich gelegentlich der Hautdesinfektion an einem Bezirke geschoren und in ziemlichem Umkreise davon noch gewaschen hatte, starben wenige Minuten später infolge dieser Behandlung.

2. Unter die **Hirnhaut** gelangt man nach Anbohrung des Schädeldaches mittels Collinschem Trepans; Babes (C. 4. 26) versah ihn mit verschiednen Bohrvorrichtungen, die alle mit demselben Schutzringe der Trepankrone verwendbar sind. Die Hirnhaut wird gespalten und der Impfstoff auf die Gehirnoberfläche gegeben.

3. In die vordere **Augenkammer**: Am kokainisierten Augapfel wird mit einer Fixierpinzette eine Falte der Bindehaut gefasst, der Augapfel nach unten gedreht und ein Lanzenmesser dicht am obern Rande der Hornhaut eingestochen. Sobald die Spitze in der vordern Augenkammer angelangt ist, muss sie die Richtung nach der Mitte der Pupille erhalten, aber immer parallel mit der Regenbogenhaut sich bewegen. Hat der Schnitt die nötige Ausdehnung, so zieht man das Messer zurück; hiebei ist es notwendig, den Stiel des Instruments derart zu senken, dass seine Spitze gegen die Hornhaut gerichtet ist (zur Vermeidung von Irisverletzungen). Dann geht man in dieser Stellung langsam aus der Kammer heraus; erst wenn die Spitze nahe der Hornhautwunde gekommen ist, muss das Messer in die Stellung, die es im Beginn der Operation einnahm, zurückgeführt werden. Durch die angelegte Wunde wird mittels Spritze oder Irispinzette das Impfmaterial eingeführt.

4. In die **Lungen** kommt der Infektionsstoff am besten und einfachsten auf dem natürlichen Wege durch Einatmung. Eine wesentliche Ausbildung der Methode verdanken wir Buchner (A. 8. 145).

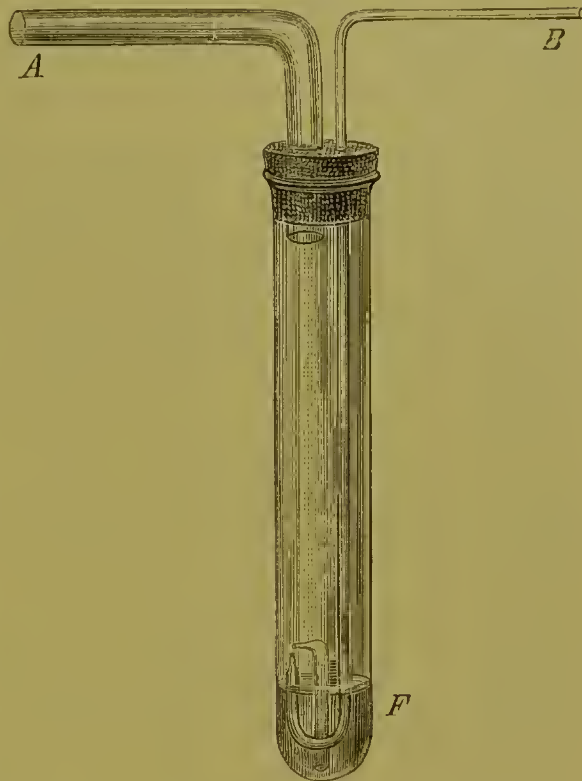
Zur Inhalation staubförmiger Stoffe wird das Tier in einen Käfig gesetzt, auf dessen Boden der infizierte Staub (z. B. getrocknetes, zerriebenes Sputum mit Tuberkelbazillen, Kohlen- oder der noch viel feinere Lykoperdonstaub, getränkt mit Bakterien oder deren Sporen) liegt. Hier mündet der Luftstrahl eines Gebläses zur Aufwirbelung des Staubes.

Besser noch ist die feine Zerstäubung von Bakterienaufschwemmungen, zumal da sie mit dem Buchnerschen Apparat auf die zweckmässigste und für den Operateur verhältnismässig ungefährlichste Weise gemacht werden kann. In den durch Watteverstopfung bakteriendicht gemachten kleinen Versuchsraum wird die Ausmündung A der in Fig. 102 wiedergegebnen Vorrichtung geleitet. Die bakterienhaltige Flüssigkeit F wird durch ein Gebläse, das bei B angesetzt ist,

zerstäubt, und entweicht bei A als indirekter Sprühnebel, der frei von allen grössern Wassertropfen ist (C. 6. 274*).

Alle Inhalationsversuche erfordern die peinlichste Aufmerksamkeit zur Vermeidung von Ansteckung der eignen Person und andrer. Der bakteriendicht abgeschlossene Apparat ist nach dem Versuch einwandsfrei zu sterilisieren. Besondre Schwierigkeit bereitet die Desinfektion des Versuchstieres, an dessen Felle die Krankheitserreger allenthalben haften. Es ist kaum die Möglichkeit, hier eine wirksame Desinfektion überall zu bethätigen. Deshalb muss das Tier in einen besondern, soliden, leicht desinfizierbaren Käfig gesetzt werden, von dem aus nirgendwohin Streu u. dgl. gelangen kann. Angefasst darf es nie mit der blossen Hand, nur mit in antiseptische Lösungen getauchten Tüchern werden, die alsbald auszukochen sind.

Fig. 102.



Man hat diese Methode als nicht einwandfrei erklärt, weil Mund- und Nasenhöhle zu grosse Aufsaugeflächen darböten, vor allem die Mandeln. Versuche, wie die Bakterien von den Alveolen aus in den Körper eindringen, werden von diesem Einwand weniger betroffen, als solche, bei denen es auf den Nachweis ankommt, dass eine Infektion direkt von der Lunge aus unter Ausschluss andrer Eingangspforten wirksam werden kann.

5. Für solche Fälle tritt die Baumgartensche Versuchsanordnung der Einspritzung in die **Luftröhre** in ihr Recht. Selbstverständlich muss dabei jede Möglichkeit einer Infektion durch die Luftröhrenwunde oder den Stichkanal ausgeschlossen sein. Der Luftröhrenschnitt, sowie die Kauterisation der Luftröhrenwand eignen sich dazu nicht, weil die Wunden zu gross werden und bei den Tieren leicht eine anderweitige Wundkrankheit der Operation folgt. Auch die Einführung einer metallischen Doppelsonde durch den Mund unter Zuhilfenahme des Kehlkopfspiegels empfiehlt sich nicht, zumal da sie bei kleinern Tieren nicht anwendbar ist. Diese Erwägungen führten Gramatschikoff zur ausschliesslichen Anwendung der Einspritzung, die also ausgeführt wird (T. 1. 456):

Beim gehörig befestigten Tiere wird nach antiseptischer Reinigung des Feldes die Luftröhre blossgelegt und ihre vordere Fläche von Fascien u. s. w. ganz befreit. Hierauf wird, ohne die Luftröhre zu öffnen, zwischen 2. und 3. Trachealring von

*) Der Inhalationsapparat ist fertig zu beziehen durch Joh. Greiner, Glasinstrumentenfabrik, München, Neuhauserstrasse 49.

der Cart. cricoïdea aus gerechnet eine möglichst dünne, sterilisierte, an der Spitze abgestumpfte Spritzenkanüle eingestochen. Die Spitze der Kanüle wird vor der Einführung der vordern Wand der Luftröhre zugewendet, dann in dieser Richtung gegen den genannten Zwischenraum angedrängt, die Kanüle gehoben und in der Richtung von oben nach unten parallel der vordern Trachealwand eingestochen. So wird eine Verletzung der Schleimhaut vermieden.

Die äussere Wunde wird nun mit einer dicken Schichte von 1‰iger Sublimatlösung durchtränkter Watte umgeben. Endlich wird für den Fall eines etwaigen Herausgleitens der Kanüle vor beendigter Einspritzung der aus der Wunde ragende Teil der Kanüle mit in Karbollösung getränkter Watte umwickelt. Dann wird die mit dem Infektionsmaterial gefüllte Spritze aufgesetzt und die beabsichtigte Menge eingespritzt.

Hierauf wird zunächst die Spritze entfernt, der Konus der noch in der Wunde stecken bleibenden Kanüle sorgfältig mit Fliesspapier von den dort befindlichen Flüssigkeitsresten befreit, das Fliesspapier verbrannt und eine zweite sterilisierte Spritze, gefüllt mit sterilisierter Bouillon oder 0,7 %iger Kochsalzlösung aufgesetzt. Diese dient dazu, die Kanüle ganz auszuspülen; es können in mehreren kleinen Portionen 2—12 ccm der Flüssigkeit eingespritzt werden, ohne dass das Tier Schaden nimmt. Nach dieser Ausspülung wird die Kanüle aus der Luftröhre entfernt, die Wunde mit Karbollösung gewaschen, genäht und mit Kollodium bedeckt.

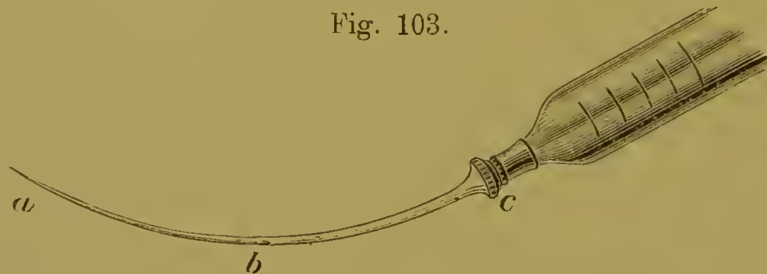
Strengste Antiseptik, Genauigkeit und Schnelligkeit im Arbeiten sind erforderlich.

6. In die **Brusthöhle.** Einspritzungen verletzen leicht grössere Gefässe oder die Lungen, es kann plötzlicher Tod, mindestens Auslösung von störenden Blutungen die Folge sein. Doch ertragen, wenn sonst keine Verletzungen gemacht sind, selbst die kleinen Mäuse den Eingriff.

7. In die **Bauchhöhle** impfen wir sehr häufig. Haupsächlich handelt es sich um die Vermeidung von Verletzungen der Leber: wir stechen deshalb lieber links von der Mittellinie ein; oder von Verletzungen der Nieren: diese sind höchstens bei Mäusen zu befürchten, schaden aber nicht immer; oder des Darmes.

Um sich davor sicher zu stellen, verwandten Stevenson und Bruce eine gekrümmte Nadel (Fig. 103), deren spitzes Vorderteil a—b nicht hohl ist, dagegen

Fig. 103.



ist die hintere Hälfte b—c eine Kanüle mit seitlicher Oeffnung an der Convexität bei b. Der Operateur hebt eine Bauchfalte sammt Peritoneum bei möglichst schlaffer Bauchwand; dann wird die Nadel durchgestochen, so dass ihre Oeffnung b im Mittelpunkt der Falte sich befindet. Bei geringem Nachlassen breitet sich die Bauchwand etwas aus, die Einspritzung wird vorgenommen, dann presst man die Wände der Bauchwandfalte wieder zusammen und zieht die Nadel heraus (C. 9. 690).

Lazarus überzeugte sich von der Unverletztheit des Darmes folgendermassen: Er nahm zunächst eine leere Spritze mit gröberer Kanüle, stach zwischen dem Schwertfortsatz und der Symphyse (des Meerschweinchens) senkrecht, ca. 1½ bis 2 cm tief ein und zog darauf den Stempel aus; befand sich die Kanüle im Darm, so kam flüssiger Inhalt; endete sie jedoch im luftleeren Peritonealraum oder verstopften leicht aspirierbare Massen die Mündung, so schnellte der

Stempel wieder zurück. Jetzt wurde die Spritze von der Kanüle entfernt, die Mündung noch auf Fäkalgeruch geprüft, sodann durch die liegengebliebne, vom Gehilfen gehaltne Kanüle ein dünner Draht geschoben, um zu sondieren, ob vor der Kanülenspitze dicke Fäkalmassen lagen. Erschien danach die Lage der Kanülenspitze im freien Bauchraum gesichert, so wurde durch die grobe Kanüle hindurch die Injektionskanüle geführt, deren Mündung genau mit der der ersten zusammenfiel (B. 92. 1072).

Die Einbringung in die Bauchhöhle ist sehr bequem und leicht auszuführen und bietet für die rasche Aufsaugung kaum geringere Hindernisse, wie die Einspritzung

8. in die **Blutbahn.** Unschwer gelingt sie in die Venen des Kaninchens; es ist gar nicht nötig, grössere, wie die Vena jugularis, cruralis zu wählen, sehr geeignet sind die Ohrvenen. Schon durch das vorbereitende Reinigungsverfahren und Desinfizieren schwellen sie an. Am besten eignet sich die am äussern Rande des Ohres hinziehende Vene, doch ist es immer gut, die Haut darüber eine Strecke weit einzuschneiden, damit das Operationsgebiet recht deutlich zu Tage liegt. Zur Vermeidung einer Gefässwandverletzung ersetzte Babes in solchen und ähnlichen Fällen die Kanülen durch sehr feine, gerade oder krumme Troikarts; ihr Stilet ist etwas weiter, als die Spritzenkanüle dick; es wird nach dem Einstechen durch die Kanüle ersetzt (C. 4. 26).

Auch in die Schlagadern, selbst gegen den Blutstrom, gelingt es, Einspritzungen zu machen. Orth und Wyssokowitsch erzeugten Endokarditis nach Bakterieninfusionen unter anderm durch mechanische Verletzung der Herzklappen, die mittels einer Sonde von der eröffneten Karotis aus erfolgte.

9. In den **Magen und Darm.** Die Infektion auf natürlichem Wege geschieht durch Vermengung des bakterienhaltigen Materiales mit dem Futter. Zur Vermeidung des Einwandes, dass sie bereits von der Mund- oder Rachenhöhle aus stattgefunden, haben Koch, Gaffky und Löffler von Kartoffelwürfeln ein Stück abgetragen, eine Aushöhlung zur Aufnahme des Infektionsstoffes gemacht und das Stück als Deckel wieder darübergelegt. Diese Würfel wurden dem Tier auf den hintern Abschnitt der Zunge gebracht, so dass sie ungekaut verschluckt werden mussten (K. M. 2 166).

Bakterienfreie Stoffe z. B. bakterielle oder andre Gifte, wie sie bei Immunisierungsversuchen zur Verfütterung gelangen (z. B. in den Ehrlichschen Untersuchungen über die Immunität gegen Ricin und Abrin D. 91. 976 und 1218) werden vorteilhaft mittels der Ehrlichschen Kakesmethode einverleibt. Albertkakes von Thiele von 6,75 g Normalgewicht werden fein zerrieben und mit der zu verfütternden Substanz in der beabsichtigten Menge zu einem steifen Teig verrührt, der gerollt und in kleine Würfel geschnitten, auf Drahtgitter gelegt rasch austrocknet.

Die Möglichkeit, auf solche Weise auch Bakterien zu verfüttern, ist nicht ausgeschlossen, nur müssen es welche sein, die das Trocknen ungeschädigt ertragen (z. B. Tuberkelbazillen oder Milzbrand- etc. Sporen); bei der Bereitung müssen alle Vorsichtsmassregeln gegen Verstreuung des Infektionsstoffes, Berührung mit den Fingern u. dgl. sorgsamst beachtet werden.

Die künstliche Infizierung durch den Verdauungskanal erfolgt mittels Einspritzung durch eine Magensonde (elastische Katheter). Diese wird durch die Durchbohrung eines Gummi- oder Holzkeiles geführt, der dem aufgespannten Tier zwischen die Zahnreihen geschoben ist. Auch mit einer Cornetschen Pinzette können die Kiefer, wenigstens kleinerer Tiere von einem Gehilfen auseinander gehalten werden.

Bei manchen Untersuchungen ist es geboten, die bakterienschädigende Wirkung des sauern Magensaftes auszuschalten. Am einfachsten, wenn auch nicht einwandfrei, wird dazu die Einspritzung in den nüchternen Magen gemacht. Nun haben aber z. B. Kaninchen niemals einen leeren Magen. Dann ist künstliche Neutralisation unbedingt nötig. Koch gab den für Choleraversuche benützten Meerschweinchen 5 ccm einer 5 %igen Sodalösung durch die Sonde ein.

Ich habe gelegentlich meiner Versuche über die Veränderungen im Magen nach Vergiftung mit Arsenik beobachtet, dass Natriumkarbonat stets eine intensive Rötung der Magenschleimhaut, einen akuten Magenkatarrh bedingt, der ausblieb, wenn ich zur Neutralisierung des Inhalts eine Schüttelmixtur von Magnesia usta verwendete. Das wäre auch für bakterielle Untersuchungen zu berücksichtigen.

Soll die Infizierung unter ganz einwandfreier Ausschaltung der Wirkung des sauern Magensaftes statthaben, so bleibt nur die direkte Einbringung in den Darm übrig. Dazu muss die Bauchhöhle unter aseptischen Vorsichtsmassregeln eröffnet werden.

Klebs empfiehlt dazu folgendes, bei seinen ohne Unterstützung ausgeführten Arbeiten über Cholera von ihm geübte Verfahren:

Eine Einwicklung mit 3 cm breiter Flanellbinde bewirkt die Fixierung des Meerschweinchens. Man beginnt mit Zirkeltouren am Halse, die die nach vorn gestreckten Vorderbeine mit einschliessen; dann geht man von der Brust aus hinten um die Wirbelsäule herum, in einer steiler abwärts steigenden Tour zur Beckengegend über und fixiert diese und die Hinterbeine mit Zirkeltouren, dazwischen mit längern Kreuztouren, an der Rückenfläche zur Brustgegend zurückkehrend. So gelingt es leicht, das Tier vollkommen zu immobilisieren, ohne die Atmung irgendwie zu erschweren. Nur die Hinterbeine und die Beckengegend müssen etwas stärker fixiert werden, weil sonst die Tiere gerne die Beine zurückziehen und aus der Umhüllung befreien. Die Bauchwand wird bei dieser Einwicklung völlig frei gelassen und dabei ziemlich stark vorgedrängt.

Nun schert man dicht über dem Nabel die Haare und desinfiziert die Stelle sorgsam. Dann sollen zwei sterilisierte Seidenfäden 2—3 mm voneinander entfernt mit krummen Nadeln durch die in einer Falte erhobne Bauchwand geführt und ein etwa 5 mm langer Schnitt angelegt werden. Ohne weitere Nachhilfe tritt danach eine Dünndarmschlinge auf das Operationsfeld. In diese wird die beabsichtigte Einspritzung gemacht, nach Herausziehung der Kanüle etwa austretender Darminhalt mit 5%iger Karbollösung fortgewischt, und der Darm mit den stumpfen Enden einer geschlossnen Pinzette zurückgebracht. Schluss der Wunde durch Knotung der Seidenfäden (D. 92. 1001).

10. In die **Harnblase.** Die Katheterisierung geschieht am schonendsten mit Nélatonschen Instrumenten am aufgespannten Tier. Sind solche nicht zur Hand, so wird ein Glasröhrchen zu langer, etwa 2—3 mm dicker, vorne rund geschmolzener Spitze ausgezogen und einige Centimeter vorm Ende in stumpfem Winkel gebogen; die Seite der Konkavität wird am dicken Ende durch eine Marke bezeichnet.

Dann wird es durch Gummischlauch mit einer grössern Stroscheinschen Spritze ohne Kanüle oder einer Spritze nach Tavelschem Muster (S. 153) verbunden; erweist sich das Rohr für die zu injizierende Flüssigkeitsmenge zu klein, so kann man es durch eine Glasspritze ersetzen, durch deren Kork statt des Stempels eine kurze Glasröhre gesteckt ist, wie ich S. 156 angegeben habe.

Nach der Impfung müssen die Tiere öfters beobachtet werden hinsichtlich ihrer Munterkeit, Fresslust, ihres Aussehens und ihrer Lage und Stellung, die sie einnehmen; es ist auf Veränderungen in der Sekretion zu sehen, ob die Augenlider verklebt sind, ob abnorme Ausflüsse aus der Nase, dem After, der Harnröhre u. s. w. bestehen, ob das Fell sich sträubt, Lähmungen vorübergehend oder dauernd auftreten u. dgl. m. In vielen Fällen sind regelmässige Temperaturmessungen notwendig, die schon bei Meerschweinchen und Kaninchen nicht mehr schwierig sind; diese haben auch unter normalen Verhältnissen eine zwischen weiten Grenzen sich bewegende Eigenwärme; es ist deshalb zu empfehlen, schon mehrere Tage vor der Impfung mit den Messungen zu beginnen. Die gemachten Wahrnehmungen sind protokollarisch niederzulegen. Man versäume auch nicht, die Lage zu notieren, in der ein von den andern abgesondertes Tier nach eingetretenem Tode gefunden wird, da das mit zu den Erscheinungen bei der Krankheit einen Beitrag liefern kann. So z. B. unterscheiden sich die an Mäuseseptikämie gestorbnen von den an Milzbrand eingegangnen Mäusen dadurch, dass diese auf der Seite liegen, während jene die hockende Stellung auch im Tode beizubehalten pflegen.

Eine **Narkotisierung** der Tiere ist meistens nicht nötig, da unsre Eingriffe in der Mehrzahl leichte oder wenig schmerzvolle sind. Ist sie angezeigt, so erfolgt sie durch Aetherinjektionen oder Einatmung von Chloroformäthermischung oder reinem Chloroform. Kaninchen sind dagegen ausserordentlich empfindlich und schwer zu narkotisieren; Meerschweinchen vertragen grosse Mengen dieses Betäubungsmittels. Unter Umständen scheint die Narkose nicht ohne Einfluss auf das Versuchsergebnis zu sein; wenigstens wollen Klein und Coxwell bei Fröschen und Ratten, die gegenüber Milzbrand wenig oder nicht reagieren, den Eintritt der Infektion beobachtet haben, wenn sie die Impfung während einer Narkose vornahmen (C. 11. 464).

Gegebnen Falls ist selbst bei der Anwendung des Chloroforms zur **Tötung der Tiere** Vorsicht geboten. So musste Kolb bei seinen Studien über die Ursache der Purpura haemorrhagica (K. A. 7. 75) davon Umgang nehmen, weil sich danach auch bei Kontrolltieren purpuraähnliche Erscheinungen in der Leiche fanden. In derartigen Fällen wird ein Stich mit einem doppelschneidigen langen Dolchmesser in die grossen Halsschlagadern gemacht, oder der Lebensknoten im verlängerten Mark zerstört.

Zur **Leichenöffnung** wird das Tier auf einem Brett von weichem Holz angeheftet, das für Mäuse z. B. ein Cigarrenbrettchen von 12 × 18 cm Grösse sein kann (für Meerschweinchen 20 × 40, für Kaninchen

40 × 60 cm). Die vier Extremitäten werden bei Mäusen mit grossen Steck- sog. Tuchnadeln (etwa 6,5 cm lang mit grossen Köpfen) angesteckt, bei den andern angenagelt. Ausserdem bedarf man an Gerätschaften: mehrere Skalpelle, Scheren, Pinzetten mit breiten und spitzen Branschen, Sonden, Platinnadeln und -Oesen, Präparatengläser mit Spiritus zum Einlegen von Organstückchen und die zu färberischen und kulturellen Untersuchungen nötigen Gegenstände.

Da wir in sehr vielen Fällen Kulturen aus den Organen der Leiche anzulegen pflegen, so ist es wichtig, zu wissen, bis zu welcher Zeit man erwarten darf, dass etwa vorhandne Krankheitserreger noch unvermischt mit nachträglich eingewanderten Fäulniserregern darin vorhanden sind. Denn die normalen innern Organe sind stets keimfrei und bleiben es auch noch eine Zeitlang nach dem Tode, bis das Eindringen der Fäulnisbakterien von aussen, zunächst vom Darm her beginnt. Trombetta, der sich mit dieser Frage beschäftigte, fand (C. 10. 664)

	bei Zimmer-temperatur	Eisschrank-temperatur	Brutschrank-wärme
für Mäuse	19	22	5 Stunden
„ Ratten	18	20	5 „
„ Kaninchen	16	20	6 „

Im Sommer wird man die Leichen kleinerer Tiere, deren Obduktion nicht, wie zu wünschen, sogleich ausgeführt werden kann, eingehüllt in mit Sublimatlösung befeuchtete Tücher in geeigneten, dichten Gefässen im Eisschrank aufbewahren. Schon im März und noch im Oktober bemerken wir an Leichen, namentlich von Mäusen, die nur einige Stunden gelegen haben, bereits deutliche Verwesungserscheinungen.

Ausser den Fäulnisbakterien vermehren sich natürlich auch pathogene, soweit ihnen die Temperatur günstig ist. Für pathologisch-anatomische Untersuchungen, bei denen die Lage der Bakterien in den Geweben und ihre Verbreitung in ihnen studiert werden soll, haben deshalb nur die Präparate Gültigkeit, die aus kurz nach dem Tode fixierten oder gehärteten Organstückchen hergestellt sind. Wissen wir doch bereits von E. Fraenkel und Simmonds*), dass der Nachweis von Herden der Typhusbazillen z. B. in der Milz um so leichter gelingt, je länger die Organe nach dem Tode gelegen haben, und noch früher hat Ziemaki auf die Vervielfältigung von Pyämiebakterien in der Leiche aufmerksam gemacht (F. 1. 536).

Die Ausführung der Leichenöffnung will ich an dem Beispiel einer Maus schildern. Denn Mäuse werden in bakteriologischen Arbeitsstätten am häufigsten seziert und Obduktionen grösserer Tiere gelangen nach denselben Grundsätzen zur Ausführung (Fig. 104).

Uebertragung der Maus aus ihrem Behälter mit einer Zange — nach vorsichtiger Abschüttlung der anhängenden Sägespäne an der

---

*) Die ätiologische Bedeutung des Typhusbacillus; Hamburg und Leipzig bei L. Voss 1886. p. 17.

innern Wand des Glases (dessen Reinigung s. S. 150) — auf das Sektionsbrettchen mit dem Rücken nach unten. Links oben auf dem Brett Anbringung eines Zettels mit den nötigen Bemerkungen und Daten.

Ausspreitzen und Anstecken der Gliedmassen, sowie des Kopfes mit Tuchnadeln. Dabei darf die Leiche nicht mit der Hand berührt werden; nur Pinzetten fassen sie an, die danach in ein Schälchen mit Karbollösung kommen.

Abscheren der Haare vom Bauch. Bloss zu diesem Zwecke verwendet man die Schere; für alle folgenden Schnitte wegen der leichtern Reinigung ausschliesslich Messer. Die abfallenden Haare werden in einen bereit stehenden Topf mit Wasser gespült. Keinesfalls dürfen sie in die Umgebung, auf den Tisch oder auf den Boden kommen oder gar weggeblasen werden. (Grössere Tiere werden am Bauche rasiert.)

Benetzung der äussern Haut und des Felles mit in Karbollösung getauchter Watte, die darauf ebenfalls in den Topf geworfen wird.

Schere, Pinzetten, kurz alle bei der Sektion gebrauchten Instrumente dürfen niemals so auf den Tisch gelegt werden, dass sie ihn mit den Teilen berühren, die an die Leiche gekommen waren. Man legt sie entweder auf ein Glasbänkchen oder in eine Schale mit Karbollösung, auf deren Boden sich Watte zum Schutz der Skalpellspitzen befindet (s. Fig. 104 Mitte, links).

Ausserdem steht ein kleiner Topf mit Einsatz, gefüllt mit 1%iger Sodalösung zum Auskochen der Metallinstrumente bereit; vornehmlich der Pinzetten, die vor Gebrauch in der Flamme getrocknet werden. Statt dessen kann man sie auch vorne ausglühen, doch leiden sie dadurch mehr. Messer und Scheren vertragen das Glühen überhaupt nicht; selbst durchs Kochen werden sie bald stumpf; man reinigt sie mechanisch recht gründlich mit nasser Karbolwatte und hält sie ½ Minute lang in die bereits siedende Natriumkarbonatlösung.

Für rasche Desinfektion der Hände, wenn sie unbeabsichtigter Weise mit Leichenteilen in Berührung gekommen sein sollten, steht eine Schale mit Sublimatlösung und Wattebausch in der Nähe.

Am rechten untern Ende des Sektionsbrettchens wird ein in Karbollösung getauchtes Wattebäuschchen mit einer Stecknadel angeheftet, woran Pinzetten und Skalpelle von etwaigen gröbern Anhängseln durch Darüberwischen befreit werden.

Schnitt vom Kinn bis zur Schambeinfuge, wobei sorgsam lediglich die Haut durchtrennt wird.

Abpräparieren, Zurückschlagen der gebildeten beiden grossen Hautlappen und Feststecken zu beiden Seiten des Leibes (die Tuchnadeln stehen schräg nach auswärts).

Besichtigung der Bauchdecken, der Drüsen*) und der Gefässe.

Entnahme eines Bluttröpfchens aus der Schenkel- oder Achselvene zum Ausstrichpräparat (S. 31); zur jederzeitigen leichten Erkennung wird der Ausstrich in Form eines V angelegt. Zahlreiche

*) Grauweisse, sehnigglänzende Längs- und Querstreifen der Bauchmuskulatur sind Alterserscheinungen.

Die Drüsen zu beiden Seiten am Unterbauch heissen auch Kniefaltendrüsen.

Bakterien finden sich oft in den Drüsen (Ausstrich in Form eines D auf demselben Objektträger).

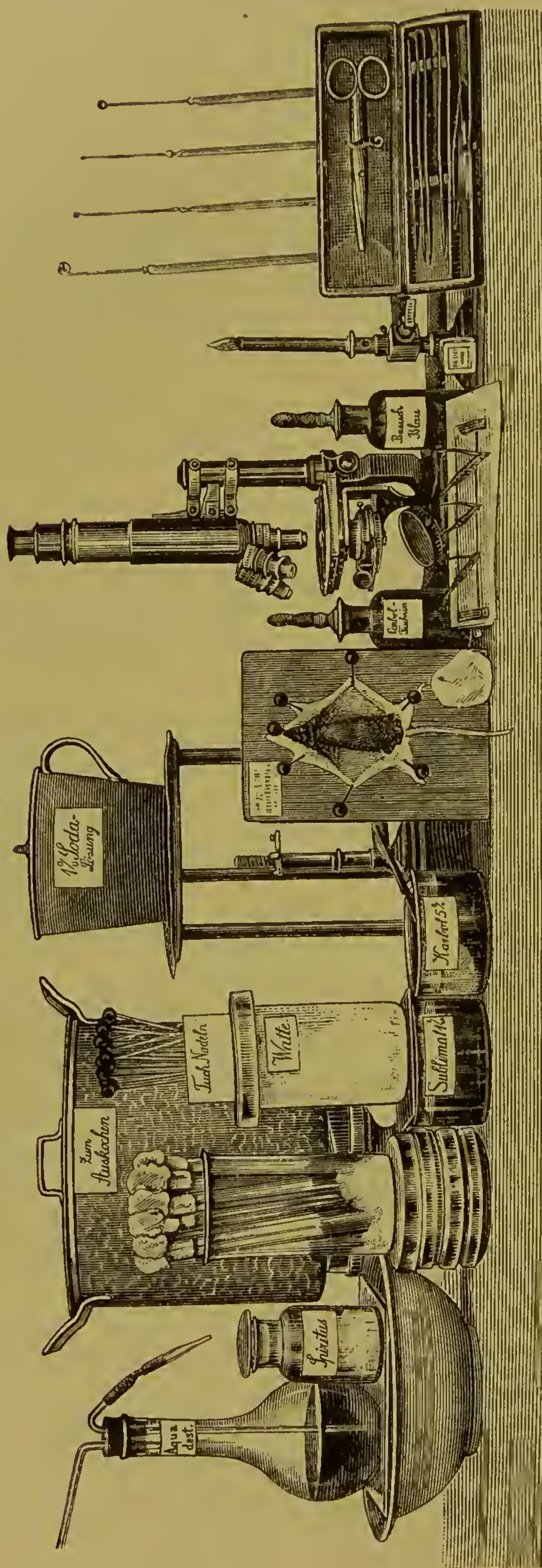


Fig. 104.

Ehe weiter gearbeitet wird, soll erst die mikroskopische Untersuchung der gefärbten Ausstrichpräparate vorgenommen werden, um sich zu überzeugen, ob und was für Bakterien sich nachweisen lassen und in welcher ungefähren Reichlichkeit (Färbung mit basisch Blau oder verdünnter Karbolfuchsinlösung).

Während der Untersuchung wird der Kadaver mit feuchter Karbolwatte bedeckt.

Nachher die Watte in den Topf zum Kochen! Ebenso ein zweiter feuchter Bausch, der zur Entfernung etwa noch anhaftender Haare dient.

Abglühen einer grösseren und zwei feinerer Pinzetten; Abkühlenlassen auf Glasbänkchen mit den Spitzen freiliegend; bei längerer Dauer von einem Glassturz bedeckt.

Bereitstellung von Nährboden (verflüssigte Gelatine im Röhrchen, Nähragar in Doppelschälchen ausgegossen und erstarrt).

Drehung des Sektionsbrettchens, so dass der Kopf des Tieres nach der linken Hand zu gerichtet ist.

Erhebung einer Falte der Bauchwand mit einer grössern Pinzette, etwa 2 mm jenseit der linea alba.

Durchtrennung der Bauchwand in der linea alba mit dem rotglühenden Platindraht.

Dieser wird, ohne zu ziehen, lediglich an die Bauchwand und zwar nur einmal angelegt, dann wieder rotglühend gemacht, und so diese Hantierung ein- oder zweimal wiederholt, bis ein genügend grosser, etwa 1 ½ cm langer Schlitz entstanden ist, aber ohne Verletzung der Leber oder der Gedärme.

Nun nimmt die rechte Hand die vorhin geglühte grössere Pinzette und fasst den Rand der jenseitigen (linken) Hälfte der Bauchwand; die Pinzette wird nach Beiseitelegung der andern, bisher gebrauchten, in die linke Hand gegeben, die nun mit dieser Pinzette die Bauchwand möglichst hoch hält.

Ein geglühter, erkalteter Platindraht mit hakenförmiger Krümmung zieht einige Darmschlingen vorsichtig nach der Seite des Operateurs zu, bis die Milz sichtbar wird.

Eine der vorhin geglühten spitzen Pinzetten fasst die Milz am untern Ende und reisst ein Stückchen von ihr ab, ohne mit den Nachbarorganen oder mit der Bauchwand in Berührung zu kommen!

Ein sterilisierter Platindraht nimmt das Milzstückchen von der Pinzette ab und überträgt es auf die Oberfläche des Agars in der Schale, die mit ihrer Agarschicht dabei nach unten gehalten wird (zum Schutz vor auffallenden Luftkeimen). Ist das Milzstückchen in mehreren schlangenförmigen Zügen darauf hin und her geführt, so kommt es in das Röhrchen mit Gelatine*), wird aber vorläufig nur an der Innenwand oberhalb der Gelatine niedergelegt, um erst später zur Plattenaussaat zu dienen, und die Obduktion nicht zu verzögern.

Erst wenn dergestalt das Material für die Reinkultur einwandfrei entnommen und versorgt ist, kommen Entnahmen zur mikroskopischen Untersuchung an die Reihe.

Auf einem Objektträger macht man 3 dünne Ausstriche, und zwar von:

der serösen Feuchtigkeit oder dem Exsudat auf dem Peritoneum in Gestalt eines P,
einem Stückchen der Milz in Form eines M,
" " " Leber " " " L.

Nun erst werden die Bauchdecken nach Verlängerung des Schnittes bis zur Schambeinfuge und bis zum Schwertfortsatz auch quer durchschnitten und beiseite geklappt, so dass der Inhalt der Bauchhöhle bequem übersehen werden kann.

Soll der Inhalt der Harnblase untersucht werden, so wird nach Verlängerung des Schnittes in der Bauchwand mit einer durch Kochen sterilisierten Stroscheinschen Spritze (S. 154) eingestochen und vom Inhalt angesaugt. Ein Tröpfchen wird auf Agar in Doppelschale wie vorhin verstrichen; 0,1—0,5 ccm werden in verflüssigte Gelatine gespritzt, die zur Rollplatte verarbeitet wird.

Sollen, was nur zu besondern Zwecken der Fall sein wird, Proben aus dem Darminhalt entnommen werden, so darf man sich nicht bloss auf eine Stelle beschränken, sondern muss mehrere Stellen doppelt unterbinden, herausschneiden, in Sublimatlösung oder besser in sterilisiertem Wasser abspülen, auf eine sterile Glasplatte legen und mit glühendem Platindraht eröffnen.

Dann geht man zur Untersuchung der Brusthöhle über. Das Sektionsbrettchen wird wieder in die ursprüngliche Lage gebracht,

---

*) Dabei will es oft nicht mehr gelingen, das Organstückchen mit dem feinen Platindraht von der Oberfläche des Nährbodens wegzubringen. Berührt man es aber mit dem erwärmten Draht, so bleibt es daran haften und lässt sich leicht abnehmen.

so dass die Maus gerade vor dem Operateur liegt. Es empfiehlt sich auch, eine Aussaat vom Herzblut zu machen. Zu dem Ende wird der Schwertfortsatz mit einer grössern Pinzette gefasst und sämtliche Rippenknorpel der linken Seite durchschnitten, ohne dass die Spitze des Messers tiefer eindringt, als dazu eben notwendig.

Die Pinzette klappt die vordere Brustwand soweit auf, dass der rechte Vorhof sichtbar wird.

Dieser wird mit einem spitzen, heissen Platindraht angestochen.

Das austretende Blut wird alsbald von einer kleinen Schlinge eines recht dünnen Platindrahtes abgenommen und auf Agar in Doppelschale, allenfalls auch auf Gelatinescheiben gebracht.

Ausstrich vom Blute auf einen Objektträger (B-Form).

Zur Erhaltung virulenten Impfmaterials oder zu weitern Studien kann vom Herzblut oder von einem Partikelchen irgend eines Organes (am besten von der Milz) ein andres Tier in der S. 156 beschriebnen Weise geimpft werden.

Herausnahme der einzelnen Organe zur nähern Besichtigung und folgenden Härtung in Alkohol.

Zunächst werden sämtliche Organe der Reihe nach auf eine Glasplatte, die zum Schutz vor Fliegen mit einer Glasglocke bedeckt ist, oder in ein leeres Doppelschälchen gelegt.

Man beginnt mit den Brustorganen:

Das Brustbein wird vollends abgetrennt, die Luftröhre möglichst hoch oben durchschnitten, mit der Pinzette gefasst und Lungen und Herz unter vorsichtigem Zuge und Nachhilfe mit dem Messer zusammen herausgenommen. Wird eine Schwimmprobe angestellt, so vergesse man das spätere Auskochen des Schälchens mit dem Wasser nicht.

Von den Organen der Bauchhöhle kommt zuerst die Milz heraus.

Dann wird der Magen unter der Leber vorgezogen, der Oesophagus nahe der Kardia abgeschnitten, Magen samt Gedärmen mittels Durchschneidung des Mesenteriums frei gemacht und über die Blase nach unten geschlagen; will man sie härten, so wird auch das Rektum durchschnitten.

Jetzt erst holt man die Leber samt dem Zwerchfell; hätte man ihre Lösung vorher versucht, so würde es kaum ohne Verlust des hinter dem Magen gelegnen Läppchens abgegangen sein.

Endlich werden die zu den Nieren führenden Gefässe und das Peritoneum mit je einem Schnittchen durchtrennt, die Organe mit der Pinzette gefasst und ebenfalls auf die Glasplatte übertragen.

Hier werden alle Teile nochmals auf etwaige auffallende Erscheinungen angesehen und dann in ein weithalsiges Glas (ca. 60 ccm Inhalt mit eingeriebnen Stopfen) gelegt; auf dem Boden befindet sich Watte, worüber verdünnter Spiritus gegossen ist, der in den nächsten Tagen durch immer konzentrierteren unter Beseitigung der Watte ersetzt wird. Beim Einlegen der Organe ist darauf zu achten, dass sie nicht am Halse der Flasche anstreifen.

Oefters ist es von Interesse, nach der Beschaffenheit der Impfstelle an der Schwanzwurzel zu sehen.

Man hätte das gleich anfangs thun können, doch wäre dazu eine zweimalige Aufspannung des Tieres, erst in der Bauch-, dann in der

Rückenlage erforderlich gewesen. Bequemer nimmt man, wenn es den Untersuchungszwecken nicht zuwiderläuft, die Besichtigung ganz zum Schluss vor.

Dazu wird die Halswirbelsäule durchschnitten, der Brustkorb mit einer kräftigen Pinzette gefasst und der Rumpf vom Fell abpräpariert. Die dabei nötige Auslösung des Schulter- und Hüftgelenks oder Durchschneidung des Humerus und Femur macht keine Schwierigkeit. Der Rumpf wird nach dem Schwanz zu herunter geschlagen und die Impfstelle tritt zu Tage, von der man Material zum Ausstrichpräparat (J-Form), zur Härtung in Alkohol oder zur Kultur entnimmt.

Hat man all das, oder soviel einem davon notwendig erschien, gemacht, so bedeckt man die Leiche mit Sublimattuch oder Glasglocke und schreitet dann zur Vollendung der Gelatineplattenaussaaten. Das an der Reagensglaswand vorhin niedergelegte Organstückchen wird mit einem stärkern, sterilen Platindraht zerquetscht und zerrieben, dass der Saft austritt und dieser zur Aussaat auf Platten (S. 105) oder Scheiben (S. 113) verwendet. Auch lasse man sich die Mühe nicht gereuen, ein oder zwei hängende Tropfen davon anzulegen. Die Tropfen kommen nebst den Agarschalen in den Brutschrank bei Körperwärme, die Gelatineplatten werden bei Zimmertemperatur, jedoch nicht zu kühl (18—22°) gehalten.

Wie vorsichtig während der Obduktion mit den Instrumenten u. s. w. umgegangen werden muss, habe ich bereits erwähnt. Die gleiche Vorsicht ist auch danach unerlässlich.

Die herausgezognen Nadeln werden in den Topf mit 1%iger Sodalösung (auf einen Einsatz) zum Auskochen gelegt. Dazu kommen die Pinzetten und etwa gebrauchte Wattebauschen.

Die Maus wird im Ofen verbrannt; sie kann, wenn kein hinreichendes Feuer vorhanden, auch im Topf mit Wasser gesotten werden. In diesen kommt jedesmal das Sektionsbrett mit der Kadaverseite nach unten, oder es wird unter den Einsatz gelegt und so sicher unter Wasser gehalten. Auf den Einsatz kommen dann die Glasplatte, worauf die Organe lagen, und alle (ausser die metallenen) Gegenstände, die mit der Leiche in Berührung waren; ferner die zur Plattenaussaat verwendeten leeren Reagensröhrchen und ihre Wattepfropfen. Messer und Scheren werden, wie früher gesagt, behandelt. Alle wertlosen Gegenstände, wie Fliesspapier u. dgl. werden verbrannt. Der Tisch wird, wenn er beschmutzt wurde, mit Karbol- oder Sublimatlösung gereinigt.

Grössere Tiere können in einem Zimmerofen nicht verbrannt werden. Womöglich sei für sie ein eigner Verbrennungsofen vorhanden. Wenn das nicht der Fall, ist man auf Beerdigung angewiesen. Allein dann muss man sicher sein, dass das Hilfspersonal gehörig tiefe Gruben anlegt, und dass die umgebende Oberfläche des Bodens nicht mit Leichenteilen, Blut u. dgl. besudelt wird (Einsargung!).

Sektionsbretter für grössere Tiere, die nicht gekocht werden können, werden über der Flamme oberflächlich abgesengt, dann gescheuert und mit chemischen Desinfektionsmitteln behandelt.

Mitunter ist es nicht möglich, allsogleich nach der Obduktion den Kadaver zu verbrennen oder unschädlich zu beseitigen. Während solcher

Stunden muss die Leiche wohl bedeckt sein mit Tüchern (Watte bei Mäusen), die mit Karbol- oder Sublimatlösung getränkt sind. Das ist besonders wichtig im Sommer zur Abhaltung der Fliegen.

Nach der Arbeit müssen sich Operateur, Assistenten und Gehilfen die Hände regelrecht desinfizieren. Ich folge der von Schimmelbusch*) nach dem Verfahren in der v. Bergmannschen Klinik in Anlehnung an die Fürbringersche Methode gegebnen Anweisung:

1. Die Haut wird in möglichst warmem Wasser mit Seife wenigstens 1 Minute lang energisch abgebürstet.

2. Sie wird mit [sterilen] Tüchern oder Gazestückchen sorgfältig abgetrocknet und abgerieben. Hiebei werden alle Nischen und Fugen besonders genau berücksichtigt und unter Zuhilfenahme eines kleinen metallnen Nagelreinigers besonders ausgefegt. An den Fingern verdienen die Unternagelräume spezielle Berücksichtigung, da sie die keimreichsten Plätze an den Händen sind.

3. Die Haut wird etwa 1 Minute mit 80%igem Alkohol unter Zuhilfenahme eines [sterilen] Gazetupfers abgerieben.

4. Es folgt das Abspülen und Abreiben mit ½‰iger Sublimatlösung und Tupfern.

Bei sehr grosser Verunreinigung der Haut ist es ratsam, vor der Anwendung dieser Desinfektionsprozedur die Haut mit Aether abzureiben, der gröbern Schmutz vorzüglich fortnimmt; allenfalls ist das zweimal durchzumachen.

Empfindliche Haut wird durch dieses Verfahren sehr mitgenommen. Ich bediene mich mit Vorteil seit Jahren folgenden Verfahrens nach Valetta (M. 87. 211), um die Hände gegen Rauhwerden und Aufspringen zu schützen: Nachdem sie gewaschen und gut getrocknet sind, werden sie innig mit Unguent. emolliens (Goldcream) eingerieben; hierauf wird auf die Hohlhand etwas Seifenspiritus gegossen, die Salbe durch Reiben der Hände verseift und schliesslich mit einem trocknen Handtuch der fette Schaum einfach abgewischt.

Zu guter Letzt wird das Protokoll geschrieben und durch die Angaben über die gefärbten Präparate und nach einigen Tagen über den Ausfall der Kulturen vervollständigt.

Ich hielt eine Beschreibung bis ins einzelne für nötig, da ich weiss, wie viele Fehler von Anfängern bei solchen bakteriologischen Untersuchungen gemacht werden, namentlich von jungen Aerzten, die von der Sektion menschlicher Leichen her gewöhnt sind, die Organe mit der Hand anzufassen und die Instrumente ungereinigt auf den Tisch zu legen. Das ist ein Unding im bakteriologischen Laboratorium, wo so viel mit Infektionsstoffen umgegangen wird, wo diese künstlich zur Massenentwicklung gebracht werden und das trotzdem ausserhalb der festgelegten Grenzen, wie der Reagensgläser u. dgl., keinen der pathogenen Keime, die der Forschung dienten, enthalten darf. Die peinliche aseptische Art des Arbeitens soll sich hier auf jedwede Hantierung ausdehnen; nicht bloss die Verstreuung infektiösen Materials muss hintangehalten werden, sondern auch jede Verzettelung nicht pathogener Bakterien. Man muss mit diesen genau so vorsichtig und penibel verfahren, wie mit den gefährlichsten Krankheitserregern, denn wird einmal irgendwo eine Regel ausser acht gelassen, so hat das ganze System ein Loch gekriegt.

Eben aus diesen Gründen sind einwandfrei gemachte und geübte bakteriologische Arbeiten ein vortreffliches Schulungsmittel für den angehenden Chirurgen und für das ärztliche Handeln überhaupt.

---

*) Anleitung zur aseptischen Wundbehandlung, Berlin bei Hirschwald. 1892 S. 49.

II.

Untersuchungen
über die Form- und Lebenseigenschaften der Bakterien.

Die mikroskopischen Merkmale.

Betrachtung im lebenden Zustande

geschieht in der Regel im hängenden Tropfen (S. 29). Zunächst handelt es sich um die Einreihung der gesehenen Mikroorganismen in eine der Hauptgruppen. Sind die als solche leicht erkennbaren Schimmelpilze und Hefen auszuschliessen, so tritt die Entscheidung heran, ob man Kugel-, Stäbchen- oder Schraubenformen vor sich hat.

Die **Kugelformen** sind mit verschwindenden Ausnahmen (Mikrokokk. agilis) unbeweglich. Nur vollständig isodiametrische Zellen können als wirkliche Kugelformen angesprochen werden. Der Begriff Kokkus bezieht jedoch auch nicht völlig kuglige Zellen oder Doppelzellen ein (z. B. den Gonokokkus u. a.). Je nach der Zusammenlagerung der einzelnen Individuen unterscheiden wir:

Haufenförmig angeordnete, oftmals traubenartig zusammenliegende: Staphylokokken.

Kettenähnlich aneinander gereihte: Streptokokken.

Tafelförmig zu vieren beisammen liegende: Tetradenkokken (Mikrokokk. tetragonus).

Würfelförmige, warenballenartig eingeschnürte: Sarcine (möglicherweise nicht zu den Bakterien gehörig).

Als **Stäbchenformen** werden die bezeichnet, deren Längendurchmesser den der Breite augenfällig übertrifft. Ist der Unterschied nur ein geringer, so sprechen wir von Kurzstäbchen. Aeltern Benennungen zufolge gehen noch eine Anzahl von plumpen Kurzstäbchen in der Nomenklatur häufig als Mikrokokken (z. B. der Mikrokokk. prodigiosus, selbst der schon ziemlich lange Kapselkokkus, den Friedländer bei einigen Fällen von Pneumonie fand). Uebertrifft der Längs- den Querdurchmesser um ein Bedeutendes, so haben wir schlanke Stäbchen. Doch ist hier Vorsicht in der Deutung nötig, denn oftmals stellt sich bei genauerm Zusehen und bei geeigneter Behandlung (mit Farbstoffen, besonders mit Jodtinktur) heraus, dass das scheinbar aus einem Stück bestehende lange, fadenförmige Stäbchen aus mehreren durch eine bisher nicht wahrnehmbare Scheidewand getrennten Gliedern zusammengesetzt ist; darum spricht man auch besser von Scheinfäden. Diese können an einzelnen Stellen scharf abgeknickt sein und dadurch bereits ihre Zusammensetzung aus mehreren Einzelzellen verraten, oder wellig, in Schlangenform gebogen erscheinen.

Derartige Gebilde sind von den **Schraubenformen** wohl zu trennen. Die Krümmungen liegen hier nicht in einer Ebene, sondern das ganze Gebilde hat die Form eines Korkziehers. Ist es weich und biegsam, so wird es als Spirochäte (Spiroch. plicatilis, oder Obermeiersche Spir. des Rückfallfiebers) bezeichnet, während starre Formen Spirillen benannt sind (Spir. rubr., concentricum, undula u. a.). Sind die Spirillen in einzelne Abschnitte von der Krümmung etwa eines Komma (aber mit in verschiednen Ebenen liegenden Enden) zerfallen, so heissen sie Vibrionen (Choleravibrio u. a.); unter ungünstigen Ernährungsbedingungen, und wenn den Gebilden die Kraft fehlt, bis zum Zerfall in die einzelnen Abschnitte vorzuschreiten, bleibt die Spirillenform bestehen.

Die Grössenverhältnisse von Bakterien finden sich in der Literatur oft in bestimmten Zahlenwerten angegeben, die mit Hilfe der Mikrometermessung gewonnen wurden. Alle solche Messungen sind mehr oder weniger ungenau und bleiben besser ganz weg. Es genügt, die Grösse schätzungsweise nach bekannten Objekten zu bestimmen, die Länge etwa nach Bruchteilen eines roten Blutkörperchens oder dgl., die Breite nach ihrem Verhältnis zur Länge.

Demnächst ist auf die Beschaffenheit der Enden der Bakterienzelle zu rücksichtigen; sie sind entweder scharf abgeschnitten, selbst etwas eingezogen, oder — wie zumeist — leicht rundlich; manche enden spitz, manche sind an den Polen verdickt. Wie die Grösse, wechseln auch diese Verhältnisse unter gewissen Bedingungen des Wachstums und auch der Präparation. Massgebend ist nur das natürliche Aussehen im ungefärbten, lebenden Zustande.

Weiterhin wird die übrige Begrenzung der Zelle — glatte, parallele, gekerbte, ungleichmässig vorgebuchtete Kontur etc., — und ihr Inhalt einer nähern Beobachtung unterzogen. Dieser kann entweder gleichmässig hell sein oder gekörnt, fein granuliert erscheinen, oft zeigen sich einzelne helle oder stärker lichtbrechende Stellen im Innern, die möglicherweise Sporen sein können, aber durchaus nicht immer ohne weiteres als solche bezeichnet werden dürfen, so grosse Aehnlichkeit sie auch mit ihnen haben mögen.

Ein besonders wichtiges Merkmal ist eine etwa vorhandne Eigenbewegung. Eine tanzende, drehende Bewegung am Orte kommt auch leblosen Dingen zu, es ist die sog. Brownsche Molekularbewegung. Sie ist recht häufig bei Kokken zu sehen. Nur wenn die einzelnen Zellen deutlich vom Orte weggehen, nach verschiednen Richtungen — unabhängig von einer etwa zufällig vorhandnen Strömung — vorwärts und zurück und aneinander vorübergleiten, ist eine Eigenbewegung mit Sicherheit anzunehmen. Aber selbst damit begabte Mikroorganismen können ihre Eigenbewegung unter gewissen, veränderten Bedingungen der Temperatur, der Ernährung einstellen. Erst wenn in wiederholten Untersuchungen die Unfähigkeit einer Bakterienart, sich vom Orte fortzubewegen, sicher beobachtet wurde, darf man sich zufrieden geben, während andrerseits für die Annahme der vorhandnen Beweglichkeit eine einzige positive Wahrnehmung hinreicht.

Die Bewegung ist bald langsam, unbeholfen, wackelnd, bald eiliger, und manche Bakterien schiessen mit blitzartiger Geschwindigkeit durchs Gesichtsfeld, dem Auge nicht Zeit lassend, die einzelne Zelle zu

fixieren. Etwas Chloroform in die kleine, den hängenden Tropfen bergende feuchte Kammer gegeben, lähmt die Bewegung und gestattet auch bei sehr flink beweglichen Mikroorganismen die Beobachtung im lebenden Zustand bis zu einem gewissen Grade. Die Bewegungsorgane selbst, die Geisseln, lassen sich im hängenden Tropfen unter den gewöhnlichen Untersuchungsbedingungen nicht erkennen. Koch fand die photographische Platte in dieser Hinsicht dem Auge an Empfindlichkeit überlegen, von ihm rühren die ersten unzweifelhaften wissenschaftlichen Beweise von dem Vorhandensein dieser feinen peitschenförmigen Anhängsel der Bakterien her (K. M. 1). Jetzt verfügen wir über geeignete Färbungsmethoden zu ihrer Darstellung, worüber später.

Weitere Einzelheiten hinsichtlich des Baues der Bakterien, die Sporenbildung u. s. w., lassen sich gewinnen durch die Hinzunahme der

Betrachtung im gefärbten Präparate.

Zur Gewinnung eines Einblickes in die Farbstoffaufnahmefähigkeit, die bei den verschiednen Bakterien und gegenüber den verschiednen Farben durchaus nicht gleich ist, macht man, um rasch einen Ueberblick zu bekommen, von einer zu untersuchenden Bakterienart eine Aufschwemmung in einem Tröpfchen Wasser und daraus je drei dünne Ausstriche in geeigneten Abständen auf zwei Objektträgern. Sind sie lufttrocken geworden und durch die Flamme gezogen (S. 32), so wird jeder einzelne Ausstrich mit einigen Tropfen einer andern Farbstofflösung bedeckt, etwa in nachstehender Reihenfolge:

1. wässrig-alkoholische Methylenblaulösung,
2. wässrig-alkoholische Fuchsinlösung,
3. Karbolfuchsinlösung,
4. wässrig-alkoholische Gentianaviolettlösung,
5. alkalische Methylenblaulösung,
6. beliebige andre Farbstofflösung.

Haben alle Farben etwa 10—20 Sekunden lang eingewirkt, so werden sie unter Vermeidung des Ineinanderlaufens von den beiden Objektträgern mit einem Wasserstrahl abgespült, dann die Präparate zwischen Fliesspapier getrocknet und das Immersionsöl darauf gegeben. Die mikroskopische Untersuchung zeigt, welcher Farbstoff bei der betreffenden Art die besten Resultate gibt, und ob einzelne von ihnen gewisse Erscheinungen zu Tage gefördert haben.

Es kann vorkommen, dass einige oder alle Farblösungen keine gute Färbung hervorbringen. Sind Mängel der Lösungen auszuschliessen, wovon man sich durch Kontrollfärbungen mit bekannten Bakterien Gewissheit verschaffen wird, so handelt es sich um Mikroorganismen, die sich entweder überhaupt hartnäckiger gegen die Farbenannahme verhalten (Typhusbazillen z. B. färben sich schwer, Tuberkelbazillen mit den wässrig-alkoholischen Lösungen fast gar nicht), oder die sich in einem gewissen abnormen, pathologischen Zustand befinden, die Entartungs-, Involutions- oder Degenerationsformen gebildet haben; einige Bakterienarten neigen dazu ganz besonders, z. B. Bact. megaterium.

Wie man einerseits finden kann, dass die gewöhnlichen wässrig-alkoholischen Lösungen nicht imstande sind, Bakterienzellen in allen ihren Einzelheiten durchzufärben, sondern erst das basisch Blau und vollends das Karbolfuchsin, so gibt es andrerseits Fälle, wo alle die einfachen Farblösungen die Zellen tadellos durchgefärbt zum Vorschein bringen, während nach Behandlung mit Karbolfuchsinlösung hellere Stellen im Innern entstehen, sehr deutlich z. B. bei den Bakterien der blauen Milch; oder an den seitlichen Begrenzungen, wie beim Typhusbazillus u. a.

Jeder derartigen Prüfung einer neu gefundnen Bakterienart hat sich in der Regel eine solche über den Ausfall des Gramschen Verfahrens anzureihen, der, wie früher (S. 50) gesagt, bei den einen positiv, bei den andern negativ ist. Hier eignen sich Objektträger wegen der nötigen wiederholten Behandlung in Alkohol weniger, wie Deckgläser. Gelingt die Färbung bei dieser Behandlung nicht, so versichere man sich jedesmal der Güte der verwendeten Stoffe, indem man ein Ausstrichpräparat von Bakterien, die erwiesnermassen die Färbung nach der Gramschen Behandlung behalten, wie Milzbrandbazillen, Staph. pyog. aureus, zum Vergleich ebenso behandelt. Bei Ausserachtlassung dieser Vorsicht könnten leicht unliebsame Irrtümer unterlaufen.

Nach der Färbung macht sich mitunter eine Aenderung der Gestalt oder des Aussehens gewisser Bakterien bemerklich, denn das Antrocknen, das mehrmalige Ziehen durch die Flamme, die Durchtränkung mit Anilinfarben, Alkohol, vollends mit Beizen (Karbolsäure etc.) kann nicht ohne Einfluss auf die Gestalt der Zellen bleiben. Schon an den Enden der Bazillen macht sich das geltend. Recht deutlich an den Milzbrandbazillen. Seit Kochs Untersuchungen gilt es als bezeichnend für diese Krankheitserreger, dass die Enden der Stäbchen nicht nur scharf abgeschnitten, sondern sogar leicht eingebogen und ausserdem etwas verdickt erscheinen, so dass sie sich dadurch morphologisch von andern, ihnen an Grösse und Form ähnlichen Mikroorganismen unterscheiden lassen. Die Erscheinung ist lediglich durch die Präparation bedingt, denn die Entstehung der Delle hängt davon ab, ob das Deckglas langsamer oder schneller durch die Flamme gezogen wurde. Scharf abgeschnitten sind die Milzbrandbazillen im gefärbten Zustande immer, im Gegensatz zum ungefärbten, wo sie abgerundete Enden aufweisen.

Als weitere Folge der färberischen Behandlung sehen wir die Milzbrandbazillen u. a. nicht selten von einem hellern Saume oder Hofe umgeben. Wahrscheinlich haben wir hier einen geschrumpften zentralen Kernkörper und ein gequollnes Plasma vor uns. Eine weitere Bedeutung kommt solchen Bildern nicht zu. E. Metschnikoff deutete den fraglichen Hof als eine Zone ausgeschiednen Giftstoffs, eine Erklärung, die angesichts der Unbeständigkeit des Vorkommens und der Unmöglichkeit, seine Darstellung nur einigermassen in der Hand zu haben, nicht stichhaltig ist.

Einige Bakterienarten dagegen sind fast regelmässig und von Natur aus mit einer Hülle, einer Kapsel umkleidet. Hier lässt sich auch an der Grenze der die eigentliche Zelle umgebenden, schwächer gefärbten Zone ein zarter, nicht zu verkennender Saum wahrnehmen,

der den Farbstoff wieder stärker aufgenommen hat. In künstlichen Kulturen pathogener Bakterien ausserhalb des Körpers sind bisher solche Kapseln bei Züchtung in Milch (Paulsen, Cr. 14. 252), sonst nur ausnahmsweise und höchstens bei der ersten Generation gesehen worden; ausserdem werden sie lediglich in dem direkt aus Sekreten, Säften oder Organen des Körpers gefertigten Präparaten gefunden, so beim A. Fränkelschen Pneumoniekokkus, beim Bacillus mucosus, beim Mikrokokkus tetragonus u. a. (Taf. I, Nr. 7 u. a.). Die färberische Darstellung gelingt nicht immer gleich schön, namentlich ist Vorsicht in der Anwendung von Wasser, das die offenbar schleimige Schicht leicht lösen kann, bei der Herstellung des Ausstriches erforderlich.

Beim Studium des Inhaltes der gefärbten Bakterienzelle fallen uns am ersten etwa vorhandne helle Stellen auf. Waren stärker lichtbrechende, runde oder ovale Partien schon im ungefärbten Präparate vorhanden, so liegt der Gedanke an das Vorhandensein von Sporen nahe. Da aber ähnliche Gebilde im Innern auch noch durch andre Momente bedingt sein können, so ist grösste Vorsicht in der Deutung notwendig. Beim Typhusbazillus beispielsweise, der im hängenden Tropfen — angelegt mit einer im Brutschrank gehaltnen Kartoffelkultur — aussieht, als sei er mit endogener Sporenbildung begabt, hat Buchner, indem er den Farbstoff (wässrige Gentianaviolettlösung) langsam zu dem zwischen Objektträger und Deckglas befindlichen Präparat unter Kontrolle des Mikroskops fliessen liess, nachgewiesen, dass die zuerst beobachteten glänzenden Körperchen etwas ganz andres sind, wie die Lücken, die nach der Behandlung mit Farbstoffen in die Erscheinung treten, und dass gerade die glänzenden Polkörner die Teile des Zellinhaltes sind, die die Farbe in erster Linie und am stärksten aufnehmen. Erst nachher färbt sich auch der übrige Inhalt des Stäbchens, zum Schluss aber entstehen mit einemmale an beiden Enden farblose Lücken infolge einer Retraktion des innern Teiles der Zelle (C. 4. 386), durch Plasmolyse verursachte Kontraktionszustände nach A. Fischer (Cr. 10. 158). Eine besonders schrumpfenmachende Wirkung übt, wie ich feststellte, der Zusatz der Karbolsäure zum Fuchsin auf künstlich gezüchtete Typhusbazillen, derart, dass auch an den seitlichen Konturen Einziehungen entstehen und der Bazillus unter Umständen ein kamm- oder sägeartiges Aussehen mit plumpen, groben Zacken gewinnen kann. Bei den ovalen Bakterien der blauen Milch schrumpft, wie ich nachgewiesen habe (K. A. 5. 520), der Inhalt der Zelle unter Einwirkung des Phenols dergestalt zusammen, dass vorher ovale Gebilde die Form eines c bekommen und nur mit Mühe noch eine die scheinbar offne Partie überbrückende Membran zu sehen ist.

Um aber derartige Gebilde mit Sicherheit von etwaigen Sporen unterscheiden zu können, sind eingehendere Untersuchungen nötig. Die Thatsache, dass sie Anilinfarbstoffe nicht oder nur unter gewissen Bedingungen annehmen, reicht allein nicht zur Gewinnung eines sichern Urteils aus, es müssen noch andre Punkte berücksichtigt werden. Im Interesse einer zusammenfassenden Schilderung aller Momente wird die färberische Darstellung der Sporen erst S. 192 zur Sprache kommen.

Im Gegensatz zu den häufigeren Erscheinungen ungefärbter Stellen in Bakterien nimmt man mitunter eine Differenzierung der Zelle in kleinere, runde, gefärbte Abschnitte wahr. Derartiges ist wohl

schon jedem aufgefallen, der Tuberkelbazillenfärbungen machte. Auch bei Leprabazillen wird ein solches, an die Gestalt einer Kokkenkette erinnerndes Aussehen gefunden, so dass Unna von einer Kokkothrixform dieser Bazillen sprach. Offenbar sind das abnorme Erscheinungen, Kunstprodukte, hervorgerufen durch die Einwirkung von Säuren u. s. w. bei der Färbungs- oder Entfärbungsprozedur (Neisser Cr. 6. 202).

Zum Studium des feinern Baues der Bakterien gehört ausser der Anwendung gewisser Farben und Färbemethoden ein sehr gutes Mikroskop, selbst eine eigne Beleuchtungsvorrichtung, und, was nicht das geringste, grosse Geduld und ein kritischer Blick.

So gelang es Schottelius (C. 4. 705) unter Benützung des Auerschen Gasglühlichtes und passender Blenden im Innern von Bazillen ein zentrales Kernstäbchen zu entdecken, das im ungefärbten Präparat als ein dunkler, von der helleren, fast homogenen Umgebung sich abhebender, wie granuliert aussehender Streifen erscheinend, bei kurzer Färbung in wässriger Gentianaviolettlösung sehr dunkel, fast schwarz wurde.

Babes erzielte durch ¼ stündige Behandlung mit einer möglichst konzentrierten Methylenblaulösung, die auf das im Antrocknen begriffene Präparat zur Einwirkung kam, dunkelrot bis violett gefärbte Kügelchen in der schwach blauen Zelle (Z. 5. 173).

Ernst gelangte unabhängig von Babes zu einem ähnlichen Resultat, indem er auf das getrocknete Präparat dieselbe Lösung oder eine solche von Hämatoxylin oder Kernschwarz in der Wärme brachte; eine Kontrastfärbung kam mit wässriger Bismarckbraunlösung zustande (Z. 4. 25 u. 5. 428). Ernsts Ansicht, als wären diese Gebilde Vorläufer von Sporen kann ich nicht beipflichten.

Die distinkte Darstellung der Kügelchen gelingt nach Neisser (Z. 4. 175) am besten mit erwärmtem Karbolfuchsin, kurzer Abspülung in 1 %iger Schwefelsäure, Nachfärbung in wässriger oder alkalischer Methylenblaulösung oder durch Färbung mit Anilinölwasser-Methylviolett, kurzer Abspülung in der genannten Säure und Nachfärbung in Säurebraun.

Derartig feine, der Grenze des Sichtbaren vielfach nahekommende Strukturverhältnisse hat Bütschli*) besonders eingehend und erfolgreich studiert. Dieser Autor hat das Vorhandensein von mit Hämatoxylin in Alkoholpräparaten oder mit Methylenblau in angetrockneten Zellen rotviolett oder rot färbbarer Körperchen bestätigt, ferner aber ihren Sitz in den Knotenpunkten eines aus dem Plasma bestehenden, blau färbbaren Wabengerüstes nachgewiesen, woraus die — so weit bei den einzelnen Bakterien vorhandne — Rindenschicht und der ebenfalls von Bütschli deutlich differenziert zur Anschauung gebrachte Zentralkörper besteht. Mit Entschiedenheit trat er für die Kernnatur dieses Körpers ein, und namhafte andre Forscher, wie Zettnow (C. 10. 689), stimmen ihm darin bei. Trambusti und Galeotti u. a. wollen sogar im Innern gewisser Bakterien eine Teilung des Kerns beobachtet haben (C. 11. 717)**). Zettnow hält auf Grund

*) Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Leipzig bei C. F. Winter 1890.

**) Ich verweise ferner auf A. Fischer Cr. 10. 158; Wahrlich Cr. 11. 49; Sjöbring C. 11. 65; Zukal Cr. 12. 862. Amann C. 13. 775.

seiner durch vortreffliche Photogramme illustrierten Untersuchungen mit Klebs und Bütschli den Teil der Bakterien, der sich mit den gewöhnlichen Kernfarben leicht und kräftig färbt, für den eigentlichen, scheinbar das ganze Bakterium bildenden Kern, den schwer und nur mit Beizen (s. u.) zur Anschauung zu bringenden Teil für das Plasma, und ist der Ansicht, dass bei geisseltragenden Bakterien das Plasma, vom Kern bereitet, sogleich die Gestalt der Geissel und eine zähere Konsistenz annimmt, anstatt ziemlich gleichmässig den Kern zu umgeben und die Geissel erst von seiner Oberfläche auszusenden.

Die färberische **Darstellung der Geisseln,** zuerst von Koch erreicht, glückte mit den frühern Verfahren nur wenig Untersuchern, wie Kunstler, Neuhauss, Trenkmann (C. 2. 729; 5. 81; 6. 433), und nur bei vereinzelten Bakterienarten; Löffler erst hat uns eine Methode in die Hand gegeben, sie, wenn auch mit mehr oder weniger Schwierigkeit, bei allen beweglichen Mikroorganismen fertig zu bringen (C. 6. 209 und 7. 625). Der Schwerpunkt beruht in der Anwendung geeigneter Beizen, jedoch ist auch die Farblösung in einer von der gewöhnlichen Zusammensetzung abweichenden Art hergestellt, die die bestmöglichste Leistungsfähigkeit verbürgt (S. 35).

Zur Ausführung sind zunächst ganz reine, nicht fettige oder getrübte Deckgläser aus Glas von nicht zu geringem Kalkgehalt nötig. Zur Vermeidung störender Niederschläge im Präparate müssen sie ganz besonders sorgfältig von etwa noch anhaftenden Unreinigkeiten befreit sein (S. 13).

Die Beize ist eine Fuchsintinte, hergestellt aus:

Tanninlösung (20 Tannin + 80 Wasser) .	10 ccm
Kalt gesättigte Ferrosulfatlösung	5 „
Wässrige oder alkoholische Fuchsinlösung .	1 „

Zur Bereitung der Tanninlösung schüttet man das Pulver ins heisse Wasser, schüttelt und lässt erkalten.

Die Ferrosulfatlösung erhält man durch Uebergiessung von 20 g Eisenvitriol (pro analysi Merck S. 67) mit 30 g kalten destillierten Wassers. Diese Lösung muss erst einige Tage stehen bleiben, damit das Ferrosum in die zur Beize geeignetere Ferriverbindung übergeht.

Die Fuchsinlösung ist die gewöhnliche konzentrierte (S. 32).

In der oben angegebnen Zusammensetzung ist aber die Beize nach Löffler nicht immer zur Darstellung der Geisseln an jeder beliebigen Bakterienart geeignet. Meistens muss sie je nachdem einen Zusatz von Alkali oder Säure erhalten, der, soweit nicht bereits durch anderweitige Versuche festgestellt, jedesmal erst ausprobiert werden muss; man benützt 1 %ige (= 1/4 normale) Natriumhydratlösung einerseits und eine auf diese eingestellte Schwefelsäure andrerseits.

Die Einstellung der Säure auf die Lauge ist jedesmal vor Beginn einer Versuchsreihe von neuem vorzunehmen. Eingestellt ist die Säure auf die Lauge, wenn ganz genau mit der Bürette abgemessene Volumina der Säure von genau ebensoviel Raumteilen der Lauge neutralisiert werden, was mit Hilfe von Indikatoren zu erkennen ist (S. 24; 67; 69). Da sich leider gerade die Natronlauge nur verhältnismässig kurze Zeit unverändert aufbewahren lässt, so thut man gut, von der beständigeren Schwefelsäure, die auf die 1%ige Natronlösung eingestellt war, eine grössere Menge vorrätig zu halten, und lieber auf diese die Natronlösung jedesmal einzustellen. Ist eine Normalschwefelsäure zufällig vorhanden, so braucht sie nur mit 3 Teilen destillierten Wassers verdünnt zu werden.

und zwar nach Gewichtsteilen, wegen der spezifischen Schwere der Säure; eine auf diese 1/4 normale Schwefelsäure eingestellte Natronlauge wird dann ebenfalls 1/4 normal sein müssen. Immer aber thut man für exakte Untersuchungen gut, sich von der Richtigkeit der Lösung mittels der Mohr-Westphalschen Wage zur Feststellung des spezifischen Gewichtes und der einschlägigen Tabellen (S. 25) zu vergewissern; ausserdem bleibt das Verfahren allzu empirisch, vom Zufall abhängig und kann niemals richtig nachgeprüft werden oder zur Vergleichung mit den Ergebnissen andrer Forscher dienen.

Die 16 ccm Beize werden nun mit verschiednen Mengen Alkali oder Säure versetzt, beginnend von 1 Tropfen an. Vorher und nach jedesmaligem Zusatz einer bestimmten weitern Menge wird ein Präparat in der später anzugebenden Weise gebeizt, gefärbt und untersucht, bis die Geisseln zum Vorschein kommen.

Um Beispiele anzuführen, gebe ich die Löfflerschen Resultate für die Geisselfärbung bei einigen Bakterienarten. Danach war beim Spirillum concentricum weder Säure- noch Alkalizusatz erforderlich. Dagegen beanspruchten die 16 ccm der Fuchsintinte bei

Cholerabakterien	einen Zusatz von	1/2— 1	Tropfen der 1%igen Natronlauge.	
Spirillum rubrum	„ „ „	9	„ „ „ „	
Typhusbazillen	„ „ „	20—22	„ „ „ „	(= 1 ccm)
Bacillus subtilis	„ „ „	28—38	„ „ „ „	
„ ödemat. mal.	„ „ „	36—37	„ „ „ „	
„ pyocyaneus	„ „ „	5— 6	„ der betr. Schwefelsäurelösung.	

Die Bakterien der blauen Milch (Bac. cyanogenes) erfordern keine so subtile Abstufung, die Beizbarkeit ihrer Geisseln schwankt zwischen 20 Tropfen Säure- und 15 Tropfen Alkalizusatz.

Als Norm sind übrigens diese Zahlen nicht anzusehen. Unter andern Bedingungen gelingt es, die Geisseln z. B. der Typhus-, der Kolonbazillen auch mittels Säurezusatz zu beizen. So hat Luksch (C. 12. 430) berichtet, dass, wenn eine frisch bereitete, kalt gesättigte Lösung von Ferriacetat statt der von Ferrisulfat benützt wird, noch 5—10 Tropfen Essigsäure zugegeben werden müssen, um gute Erfolge zu erzielen. Zur Förderung der Reinheit der Präparate spülte Luksch nach 1 Minute langer Beizewirkung in 20%iger Essigsäure ab, eine Prozedur, die aber leicht die Färbbarkeit beeinträchtigen kann.

Die Färbeflüssigkeit muss immer frisch bereitet werden, und zwar nach Löffler folgendermassen:

In etwa 10 ccm Anilinölwasser (S. 34) werden einige Krystalle Fuchsins gegeben. Zur Erzielung der Schwebefällung träufelt man dann mittels einer Pipette so lange Tropfen für Tropfen 1‰ige Natronlauge ein, bis die klare Farbstofflösung eben undurchsichtig zu werden beginnt.

Die sehr verdünnte Natronlauge erhält man, wenn man 1 ccm der zur Beize bestimmten Natriumhydratlösung mit 9 ccm neutralen destillierten Wassers vermischt.

Die Ausführung der Geisselfärbung geschieht vorteilhaft mit Bakterien von recht jungen Kulturen, die etwa in 24 Stunden bei der ihnen zusagendsten Temperatur auf schräg erstarrtem Nähragar oder Blutserum (allenfalls auf Gelatine) gewachsen sind. Ein Partikelchen der Oberflächenansiedlung wird zunächst in einem Tröpfchen Wassers aufgeschwemmt. (Löffler fand manchmal das Leitungswasser geeigneter, wie das die Bewegung z. B. von Typhusbazillen hemmende destillierte Wasser.) Von dieser Aufschwemmung werden Ausstriche auf wohl gereinigte, unter Schutz vor Staub aufbewahrte Deckgläser oder Objektträger gemacht.

Die Präparate lässt man erst gut lufttrocken werden.

Das folgende dreimalige Durchziehen durch die Flamme hat mit besondrer Vorsicht gegen Ueberhitzung zu geschehen; am besten hält man dabei das Deckgläschen zwischen Daumen und Zeigefinger, denn so lange die Wärme für die Finger noch erträglich ist, leiden auch die Geisseln keinen Schaden.

Das hierauf von der Cornetschen Pinzette gehaltne Präparat wird schwappend mit Beize bedeckt;

über der Flamme erwärmt, bis Dampfbildung sichtbar wird (nicht kochen!).

Die also erwärmte Beize bleibt unter leichter Hin- und Herbewegung $^{1}/_{2}$—1 Minute mit dem Deckglase in Berührung.

Abspülung mit einem kräftigen Strahle destillierten Wassers.

Abspülung in absolutem Alkohol zur Entfernung der am Rande haftenden Beizereste, bis das Präparat klar aussieht.

Auftropfen der Farbflüssigkeit, so dass das Deckglas ganz davon bedeckt ist.

Wiederum erwärmen bis zur Dampfbildung 1 Minute lang.

Abspülung mit Wasser.

Im übrigen wie S. 36 Nr. 5 und 6.

Nicolle und Morax haben das Verfahren vereinfacht. Es gelang ihnen bei Verwendung eines sehr reinen Tanninpräparates und zwei bis dreimaliger Anwendung der Beize von dem Zusatz von Alkali oder Säure absehen zu können, sowie durch vorsichtige, nicht zu starke und nicht zu schwache Erhitzung, durch ausreichende Wasserspülung zwischen jeder Beizung und Vermeidung von Alkoholspülung eine zufriedenstellende Färbung der Geisseln ohne störende Niederschläge im Präparate zu erzielen. Als Färbemittel eigneten sich dann verschiedne der gebräuchlichen Lösungen, wegen ihrer langen Haltbarkeit und, weil sie jederzeit zur Hand, am besten die Karbolfuchsinlösung. Das Verfahren gestaltet sich, wie folgt (P. 7. 554).

Aufschwemmung eines Teilchens frischer Agarkultur mit gewöhnlichem Wasser im Reagensglase, so dass die Flüssigkeit wenig getrübt ist.

Verteilung der Aufschwemmung mit einer Pipette auf der Oberfläche von Deckgläschen, die durch wiederholte Erhitzung in der Flamme gereinigt sind.

Neigung des Deckgläschens und Absaugung des Ueberschusses der Flüssigkeit, die sich in der untern Ecke sammelt, mit Pipette.

Trocknenlassen im staubfreien Raum.

Einen grossen Tropfen Fuchsintinte auf die Oberfläche.

Erhitzung während 10 Sekunden über einer kleinen Flamme (nicht länger, als bis Dämpfe an der Oberfläche erscheinen).

Abgiessen der Flüssigkeit; Neigen des Deckglases; auf die obere Ecke lässt man einen Wasserstrahl wirken, so dass die Bakterienschicht nicht abgespült wird.

2—3malige Wiederholung von Beizung und Waschung.

Dazwischen jedesmalige Abtrocknung der untern Seite des Deckgläschens, sowie der Fassenden der Cornetschen Pinzette.

Färbung mit Karbolfuchsin unter 1—2maliger Erhitzung 1/4 Minute lang. Letztmalige Waschung und Untersuchung im anhaftenden Wassertröpfchen.
Wenn gelungen, Trocknung und Einschluss in Kanadabalsam.

Eine Vereinfachung hat ferner Sclavo angegeben. Nur hat sie den Nachteil, dass sie durchaus nicht bei allen geisseltragenden Arten gleich gute Ergebnisse liefert. Bei Typhus- und Cholerabakterien und den ihnen ähnlichen Kleinwesen sind die Erfolge unsicher; sicher sind sie u. a. beim Baz. pyocyaneus und bei den Proteusarten. Die vollkommen getrockneten Ausstrichpräparate kommen, ohne vorher durch die Flamme gezogen zu werden, zuerst eine Minute lang in alkoholische Gerbsäurelösung (1 g Tannin: 100 ccm 50%igen Alkohols). Nachdem sie mit destilliertem Wasser abgewaschen sind, werden sie eine weitere Minute lang mit einer 50%igen (Meta-) Phosphorwolframsäurelösung behandelt. Nach abermaliger und sorgfältiger Abwaschung mit Wasser folgt eine 3—5 Minuten lange Färbung mit einer leicht erwärmten, gesättigten Anilinwasser-Fuchsinlösung (Hammerl H. 3. 950).

Bei der Untersuchung sieht man an wohlgelungenen Präparaten alle oder wenigstens die Mehrzahl der Bakterien infolge der Mitfärbung ihres geisseltragenden Plasmas bedeutend grösser als gewöhnlich und mit den fraglichen Anhängseln versehen, je nach der Art nur mit einer oder mit mehreren. Eine Geissel besitzen z. B. die Choleravibrionen, ausserordentlich viele der Hausersche Proteus vulgaris (ein bekannter Fäulniserreger). Oft begegnet man abgerissnen Geisseln; Löffler photographierte spindelförmige, zopfartige Gebilde, die er bei gewissen Bakterien fand, wahrscheinlich zusammengedrehte und dann losgelöste Büschel von Geisseln.

Die Merkmale bei der Züchtung.

Die **Wahl der Nährmittel** entscheidet sich von Fall zu Fall. Sie soll nicht schablonenmässig geschehen; man wird vielmehr bei Bakterienarten, deren Lebenseigentümlichkeiten verfolgt werden sollen, zu künstlichen Nährmitteln von solcher Zusammensetzung greifen, wie sie den natürlichen Lebensbedingungen am meisten Rechnung tragen.

Haben wir ein Kleinwesen beispielsweise in Kohlrabiaufguss gefunden, so werden wir es, wenn uns an der Herstellung möglichst günstiger Bedingungen gelegen, in Kohlrabiinfus weiter züchten, dem auch gelatinierende Stoffe zugesetzt werden können (jedoch ohne seine Reaktion dadurch zu ändern!). Hühnercholerabakterien wurden z. B. auf Bouillon (mit oder ohne Zusatz von Gelatine oder Agar) aus Hühnerfleisch kultiviert. Derartige Feinheiten sind manchmal sogar unbedingtes Erfordernis gewesen; so beim Gonokokkus, der bloss auf menschlichem Blutserum zur Entwicklung gebracht werden konnte, entsprechend seinem ausschliesslichen Parasitismus beim Menschen.

Die Auswahl der Nährmittel stützte sich bisher auf mehr oder

weniger willkürliche Erwägungen. Ob sie den Anforderungen der Bakterien in der besten Weise entsprechen, darüber können erst planmässige Prüfungen mit exakten Methoden Entscheidung bringen, wie sie Hesse in seinen Untersuchungen über die gasförmigen Stoffwechselprodukte beim Wachstum der Bakterien (Z. 15. 17) in die Forschung einführte.

Nicht zum mindesten ist es die **Reaktion** des Nährmittels, die einen entscheidenden Einfluss auf die Entwicklung von Kleinwesen hat; eine Anzahl — Schimmelpilze, Sprosspilze, einige Bakterien, z. B. die der blauen Milch — verlangen saure Nährboden, während andre — die meisten Bakterienarten — auf schwach alkalischen Substraten die entsprechendsten Bedingungen für ihr Fortkommen finden. Auch darüber lässt sich in einwandfreier Weise nur durch die Beobachtung des Atmungsvorganges der Bakterien unter den verschiednen Bedingungen nach Hesse (s. später) Auskunft erhalten.

Wenn aber die praktische Ausführung solcher Untersuchungen unmöglich ist, kann man sich wenigstens auf folgende Weise einen Einblick verschaffen:

Nähragar von scharf neutraler Reaktion wird zu genau je 10 ccm in elf Kulturschälchen gegeben. Davon bekommt das erste einen Zusatz von 1 ccm, das folgende einen Zusatz von 0,9 ccm, das dritte 0,8 ccm u. s. f. bis zu 0,1 ccm Normalsodalösung (14,3 %ig), während das letzte zur Kontrolle ohne Zusatz bleibt. Dann werden sämtliche Schälchen in den Dampfapparat gestellt, bis der Agar verflüssigt und eine etwa zufällig hineingelangte Verunreinigung unschädlich gemacht ist. Nach der Herausnahme wird jedes Schälchen auf und ab geneigt zur Erzielung einer möglichst guten Mischung von Nährmittel und Sodalösung (für säurebedürftige Kleinwesen nimmt man Normalsalzsäure oder besser Normalmilch- oder Citronensäure). Ist gehörige Erstarrung eingetreten, so folgt die Impfung mit einer kleinen Platinöse voll ziemlich dünner Aufschwemmung der zu prüfenden Bakterienart. Sie wird dreimal nacheinander in geeigneten Zwischenräumen auf der Agaroberfläche ausgestrichen. Hierauf setzt man die Schälchen (mit dem Deckel nach unten) in den Brutschrank. Jeden folgenden Tag nimmt man eine Besichtigung vor, um protokollarisch festzustellen, in welchem der Schälchen die dünn gesäten Ansiedlungen am grössten geworden sind (Messung mittels mm-Massstabes mit blossem Auge oder Okularmikrometers unterm Mikroskop). Auf dem zusagendsten Nährmittel werden sich die Kolonien am üppigsten entwickelt haben.

Nährgelatine eignet sich zu derartigen Untersuchungen bloss bei Kleinwesen, die besser bei Zimmer- als bei Körperwärme gedeihen und auch dann nur, wenn sie die Gelatine nicht verflüssigen und unbeweglich sind. Mit steigendem Alkalizusatz wird nämlich die Gelatine weicher, setzt infolgedessen der Ausbreitung und dem Verflüssigungsvermögen der Keime geringern Widerstand entgegen und behindert die beweglichen, verflüssigenden Bakterien weniger am Eindringen in die Umgebung. So kann der Fall eintreten, dass trotz der ungünstigeren Ernährungsbedingungen in der Nährgelatine mit hohem Alkaligehalt ein ausgiebigeres Wachstum vorgetäuscht wird.

Bouillon lässt sich zu den vorliegenden Prüfungen am allerwenigsten verwenden, da eine Beurteilung nur nach dem Grade etwaiger

Trübung und der Menge des Bodensatzes möglich ist. Dabei ist eine Bestimmung durch Messung in gleich bequemem Grade wie bei den Ansiedlungen auf festen Nährboden ausgeschlossen.

Durch die richtige Wahl des Nährmittels lassen sich gewisse Lebenserscheinungen der Kleinwesen besonders schön zur Anschauung bringen, namentlich Farbstoffbildungen; abgeschwächtes Farbstoffbildungsvermögen lässt sich dadurch sogar wieder auf die frühere Höhe bringen. Hat z. B. das Bakterium der blauen Milch durch fortlaufende Kultur Einbusse daran erlitten, so genügt eine einmalige oder wiederholte Uebertragung auf frische, nicht gekochte Magermilch, sie wieder herzustellen; ähnlich beim Bacillus prodigiosus die Aussaat auf befeuchtete Oblaten.

Im allgemeinen kommen hauptsächlich die aus peptonisiertem Fleischwasser und Blutserum bereiteten durchsichtigen, festen und flüssigen Nahrmittel in Verwendung, von den undurchsichtigen, festen die Kartoffel, von den undurchsichtigen, flüssigen die Milch.

Wenn nur irgend möglich, bildet die **Plattenkultur** oder die Schalenkultur den Ausgangspunkt für die Untersuchungen, nicht allein weil sie die Trennung der Keime gestattet, sondern vornehmlich wegen ihres Wertes für das Studium der Wachstumseigentümlichkeiten der Bakterien unter Zuhilfenahme der mikroskopischen Besichtigung.

Dieses Studium ist durch die Anwendung der Gelatinescheiben in besonders zeit- und materialsparender Weise ermöglicht.

Haben wir den Keimen genügende Zeit zur Entwicklung gelassen, so achten wir bei der Untersuchung auf folgende Dinge.

Sofort beim Aufheben des Deckels der Doppelschale vergewissern wir uns von der Art des Geruches, den die in Massen gewachsnen Keime infolge der Erzeugung flüchtiger Stoffe haben entstehen lassen.

Dann folgt die Besichtigung mit blossem Auge; am leichtesten fällt eine etwaige Verflüssigung der Gelatine auf; manchmal geht sie über eine blosse Erweichung nicht hinaus; viele und noch sehr kleine Verflüssigungsherde verleihen der Gelatineschichte ein mattiertes Ansehen, wie mit vielen feinsten Nadelstichen versehen, grössere stellen sich als trichterförmige, in die Tiefe reichende, oder schalenförmige, mehr oberflächliche Zonen dar, die entweder wie mit einem Locheisen ausgeschlagen sind, oder mit unregelmässigen, buchtigen Rändern abgrenzen.

Ferner macht sich oft eine Trübung der Gelatine geltend, die meist durch eine übermässig dichte Besäung bedingt ist, jedoch auch in der Umgebung von isoliert stehenden Ansiedlungen als Erscheinung von Stoffwechselprodukten der Bakterien auftreten kann. Das Gegenteil lässt sich mitunter viel deutlicher wahrnehmen, wenn zufällig nicht ganz klar geratene Gelatine verwendet wurde; dann sind die einzeln gelegnen Kolonien von einer 1 oder mehrere mm breiten, hellen Zone umgeben, in der von der vorher vorhanden gewesenen Trübung nichts mehr zu sehen ist. Genau zu erklären vermögen wir vorläufig den Vorgang ebensowenig, als wir uns Gewissheit über die Natur der unerwünschten Trübungen der Gelatine verschaffen können.

Auch über das Zustandekommen krystallinischer Ausscheid-

ungen, wie wir sie ab und zu auf Platten oder in Stich- und Strichkulturen dicht neben und unter den Kolonien beobachten, wissen wir noch nichts sicheres. Verarmung an Wasser scheint dabei eine Rolle zu spielen, denn oft sehen wir in eintrocknenden dünnen Gelatineschichten auf Platten dieselbe Erscheinung, auch ohne stattgehabte Entwicklung von Keimen, in einer Weise, dass die Betrachtung mit blossem Auge auf eine solche schliessen lässt, bis das Mikroskop Aufklärung bringt.

Nicht leicht zu übersehen ist eine etwa entstandne rote, braune, blaue, grüne oder fluoreszierende u. a. Farbstoffbildung in der Umgebung der Ansiedlungen.

Jetzt erst wenden wir uns zu einer Betrachtung der Kolonien selbst und sehen zu, ob sie mehr oberflächlich oder in der Tiefe zur Entwicklung gekommen sind.

Alsdann schätzen oder messen wir ihre Grösse ab, die von den feinsten, eben noch mit blossem Auge erkennbaren Pünktchen bis zu Ausbreitungen von 1 und mehreren cm betragen kann. Ferner nehmen wir Notiz von der Gestalt und Farbe. Die meisten Merkmale bieten die oberflächlich liegenden. Sie können sein: kreisrund, oval, wetzsteinförmig, scharfrandig, gebuchtet, zackig, strahlig begrenzt, im ganzen dick oder zart, flach, kuppenförmig, spitzig, zapfenförmig, genabelt, höckerig u. dgl. Zarte Oberflächenausbreitungen verhalten sich anders, wenn sie im durchfallenden, als wenn sie im auffallenden Lichte betrachtet werden; erst sehen sie vielleicht bläulich durchscheinend, dann schön irisierend aus, abgesehen von den eigentlichen grünen, blauen, violetten, roten, gelben, braunen, schwarzen u. s. w. Farbstoff bildenden.

Nun bringen wir die Platte unters Mikroskop, nehmen eine 30—100fache Vergrösserung, benützen zur Beleuchtung den Hohlspiegel und schieben die engste Blende unter den Kondensor. Hier enthüllen sich noch feinere und andre Einzelheiten, wie bei der Besichtigung mit blossem Auge, wenn nur die Ansiedlungen nicht zu dicht stehen. Jedenfalls wenden wir uns zunächst zur Betrachtung der Beschaffenheit des Randes, der bei Oberflächensiedlungen oft sehr dünn und farblos ist; er kann scharf, stumpf, regelmässig, unregelmässig, buchtig, wellenförmig, zackig, gezähnelt, strahlig, pelzartig, mit langen, geraden, geschlängelten, maschenförmig umgebognen Fortsätzen, schleifenartigen Windungen versehen, von einem scharfen hellen oder dunkeln Saum (Erweichungs-, Verflüssigungszone) umgeben sein.

Dann zum Aussehen der mittlern Zonen. Ihre Farbe kann unterm Mikroskop oft anders sich darstellen, wie bei der Besichtigung mit blossem Auge. Das Innere kann sein: hell oder dunkel ohne besondere Zeichnung, mit einem kleinen Kreis oder Fleck nach der Mitte zu, mit konzentrischen Ringen, kuppenförmig, maulwurfhügelartig ansteigend, böllerähnlich; die Zeichnung: grob oder fein granuliert, mosaikartig, wie aus Glasbröckchen zusammengesetzt, schnörkelartig, schlierig, mit vielfach gewundnen, verschlungenen, sich kreuzenden, verwirrten Linien und Fäden versehen; manchmal bemerkt man bei verflüssigenden Kolonien beweglicher Bakterien schon bei der schwachen Vergrösserung eine gewisse Unruhe und Bewegung im Bilde.

Endlich kann mit Hilfe eines Okularnetzmikrometers die Grösse der Kolonien genauer bestimmt werden.

Von den in solcher Weise gewürdigten und in einem Protokolle beschriebenen Kolonien werden zum weitern Studium Abimpfungen mit der Platinnadel (S. 119) vorgenommen, jedenfalls zur Untersuchung im hängenden Tropfen und im gefärbten Präparat, wenn als notwendig erachtet, auch zur Weiterzüchtung in Röhrchen mit gerade oder schräg erstarrten Nährboden, in Bouillon u. s. w.

Für die mikroskopische Untersuchung bei starker Vergrösserung (Oelimmersion) kommen ausser den beiden genannten noch Klatschpräparate in Betracht, die eine gute Uebersicht über die Aneinanderlagerung der Bakterien im natürlichen Zustande gewähren.

Auf irgend eine bei schwacher Vergrösserung ausgesuchte Stelle wird ein wohl gereinigtes Deckglas aufgelegt und mit der Pinzette oder Platinnadel sanft gegengedrückt. Man kann gleich einen Tropfen Oel aufgeben und die Kolonie in der natürlichen Lage mit starkem System durchmustern (etwas weitere Blende; Planspiegel). Zur Abhebung des Deckglases setzt man dicht an eine Seite des Deckglases eine Nadel oder die Spitze einer Pinzette, damit es sich beim Aufheben mit der hakenförmig gebognen Platinnadel oder einer andern Pinzette, die an der gegenüberliegenden Seite unter den Rand greift, nicht verschieben kann. Dann fasst man es mit einer Cornetschen Pinzette, wischt einen allenfallsigen Oeltropfen auf der präparatfreien Seite mit einem in Chloroform getauchten Pinsel ab, lässt lufttrocken werden, zieht dreimal mit der Präparatseite nach oben durch die Flamme und färbt und behandelt das Präparat in bekannter Weise. Die Untersuchung geschieht erst mit schwacher, dann mit starker Vergrösserung ohne Blende.

Wurde nach diesen Untersuchungen die Platte wieder in die feuchte Kammer zurückgebracht, so wird sich nach wenigen Tagen eine geringere oder grössere Menge neuer Kolonien zeigen, deren Keime aus der Luft stammen. Man lernt sie zwar bald von den ursprünglich ansässigen wenigstens teilweise unterscheiden, aber für weitere Verwertung taugt die Platte meist nicht mehr. Hat sie ihrem Zwecke gedient, so wird sie in einem Topf mit Wasser ausgekocht, auf dessen Boden ein durchlöcherter Einsatz steht; bei unmittelbarer Berührung mit dem Boden gehen die Platten gewöhnlich entzwei.

Will man aber auch die im Innern der Nährbodenschichte gelegnen Kolonien, sowie das oft so bezeichnende Eindringen der Bakterien in die Gelatine beobachten, auch die oberflächlichen Kolonien mit ihren feinsten Verzweigungen besser für die Untersuchung erhalten, als es mit Klatschpräparaten der Fall zu sein pflegt, so gelingt es mittels eines von Jacobi (C. 3. 536) angegebenen Verfahrens, die Gelatineplatte durch Härtung zu konservieren und für eine Färbung nach Art der Schnitte herzurichten, was sich für das Studium der ersten Anfänge der Kolonien besonders eignet.

Wenn das Wachstum genügend weit vorgeschritten, aber ehe eine etwaige Verflüssigung zu ausgedehnt geworden ist, übergiesst man die Platte in einer flachen Schale mit einer 1%igen Lösung von Kaliumbichromat und lässt sie 1—3 Tage am Licht stehen. Dann löst sich die dünne Gelatineschicht entweder von selbst von der Platte ab oder lässt sich mit einem Spatel leicht herunterschieben. Nun folgt 24stündige

Auswaschung in Wasser und nachträgliche Härtung in 50 % Alkohol, der nach 12—24 Stunden durch 70%igen ersetzt wird. Aus diesem kommen Stückchen der dünnen Gelatinemasse, die jetzt vollständig wie Schnitte behandelt werden, in die Färbeflüssigkeit; alkalische Methylenblaulösung eignet sich gut; dann Auswaschung in schwach essigsaurem Wasser und Alkohol. Ehe die Präparate in den absoluten Alkohol kommen, empfiehlt es sich, um Werfen zu vermeiden, sie zwischen zwei Objektträgern auszubreiten und später, nachdem sie in Xylol oder Terpentinöl aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen sind, durch eine auf das Deckglas gelegte Bleibeschwerung in ebener Lage zu erhalten.

Empfehlenswert ist auch die Färbung von Ausschnitten aus Formalindämpfen ausgesetzt gewesenen Plattengüssen (Hauser S. 125).

Die Anlegung der **Reinkulturen in Reagensgläsern** bietet uns weiterhin Gelegenheit, die Wachstumseigentümlichkeiten der Bakterien in grösserem Massstabe zu beobachten.

Die meisten Merkmale machen sich in der Gelatinestichkultur geltend. Leider bleibt die Ausführung bloss auf solche Arten beschränkt, die bei Zimmerwärme zu gedeihen imstande sind.

Ist der Einstich in die gerade erstarrte Gelatinesäule gemacht, so wird das mit dem Wattepfropfen versehene und bezeichnete Reagensröhrchen in einem mit schwarzem Papier ausgekleideten Gefässe an dunkelm Ort und bei geeigneter Temperatur (16—22°) aufbewahrt. Will man Aufschluss über die Schnelligkeit oder Langsamkeit des Wachstums haben, so müssen täglich Besichtigungen und, so weit möglich, Messungen vorgenommen und im Protokolle verzeichnet werden.

Bei nicht verflüssigenden Bakterien kommt das Aussehen des Impfstiches selbst — ob zusammenhängend oder unterbrochen, ob das Wachstum auf die Einstichstelle beschränkt bleibt, oder von ihr weiter ins Innere des festen Nährmittels gleichmässig oder strahlenförmig, borstenförmig u. dgl. sich fortsetzt — in Betracht, ferner ob auch Oberflächenwachstum eintritt, wie weit es sich erstreckt (über die ganze Oberfläche bis zur Glaswand oder weniger weit), ob die Auflagerung dünn, oder dick, kuppen- oder nagelförmig, gleichmässig rund oder wellig, zackig, strahlenförmig begrenzt, ob von harter, spröder oder weicher, schleimiger, fadenziehender Konsistenz, (erst bei wiederholter Abimpfung festzustellen), welche Farbe sich an der Kultur und im Nährsubstrat zeigt.

Bei Kulturen von Bakterien mit peptonisierenden Eigenschaften ist ausser der Färbung namentlich die Art der Verflüssigung zu unterscheiden als schalenförmig, trichterförmig mit weiter oder engerer Oeffnung (annähernde Messung der fortschreitenden Zunahme des verflüssigten Bezirkes), ob der Trichter nach unten spitz zuläuft oder stumpf, sackförmig endigt, ob die verflüssigte Gelatine klar oder trüb wird, welche Wolken, Knäuel oder sonst geartete Massen sich am Grunde der Verflüssigung bemerklich machen, und ob auf der Oberfläche Häutchen oder dgl. schwimmen. Manche Bakterien erweichen die Gelatine bloss, ohne sie zu verflüssigen (Schweinerotlauf u. a.); dann scheint die Gelatine nur trichterförmig eingezogen.

was nicht mit Verdunstungseffekten verwechselt werden darf. Gärungserreger bilden besonders in zuckerhaltigen Nährmitteln mehr oder weniger reichliche Gasblasen.

Die Strichkultur auf schräg erstarrtem Nährboden wird bei Gelatine zumeist nur mit nicht verflüssigenden Bakterien angelegt und findet vielfache Anwendung auf Agar. Man kann im untern Teil des Nährbodens daneben noch eine Stichkultur anlegen. Die strichförmige Aussaat bringt eine viel massigere Ernte, und ist einesteils darum namentlich bei Farbstoffbildnern beliebt, andernteils aus dem Grunde, weil mit wenigen Ausnahmen (z. B. Spirillum rubrum) die Pigmentproduktion bei Gegenwart von Sauerstoff eine gesteigerte ist.

Die allgemeine Verwendbarkeit, die der Zusatz von Glyzerin dem Nähragar verschaffte, ist der Grund gewesen, dass schräg erstarrtes Blutserum jetzt seltener gebraucht wird, wie früher. Am meisten bedient man sich seiner noch zur Züchtung der Tuberkelbazillen, deren Virulenz auf diesem Nährboden besser bewahrt bleibt, wie auf Glyzerinagar; ferner vermischt mit Bouillon (S. 93) im Verhältnis von 1 : 3 zur Züchtung der Diphtheriebazillen u. a. Für manche Bakterien, z. B. Gonokokken eignet sich nur Blutserum vom Menschen, aber auch diese Mischung wird einfacher durch Ausstreichen eines Tröpfchens Blutes oder Hämoglobins in 0,6 %iger Kochsalzlösung (S. 84), namentlich zur Züchtung der Influenzabazillen ersetzt. In flüssigem Zustande ist das Blutserum unentbehrlich zur Prüfung der Wirkung von Desinfektionsmitteln auf Bakterien, die sich in eiweisshaltigen Medien wesentlich anders verhält, wie in eiweissfreien.

Soll zur mikroskopischen oder anderweitigen Untersuchung eine Probe von einer Kultur entnommen werden, so ist zuvörderst eine Abimpfung auf frischen Nährboden vorzunehmen, damit die Reinkultur unter allen Umständen gesichert sei.

Die Art und Weise, wie sich Mikroorganismen im Innern des Nährbodens ausbreiten, lässt sich (bei Gelatine nur an nicht verflüssigenden Bakterien) studieren, wenn man mit dem Mikrotom **Schnitte aus den Stichkulturen** anlegt. Dazu ist ein eignes Härtungs- und Präparationsverfahren nötig, das von Fischel und Weigert (F. 5. 663) angegeben, von Neisser (C. 3. 506) folgendermassen abgeändert und gebraucht wurde:

Die stichförmig geimpfte Nährgelatine wird im Röhrchen leicht angewärmt, so dass der Gelatinecylinder herausgleiten kann. Er wird, je nach seiner Grösse und Dicke, 1—4—8 Tage in eine 1%ige Lösung von Kaliumbichromat gelegt und bleibt darin im Lichte stehen, wodurch eine in Wasser unlösliche Modifikation der Gelatine zustande kommt. Der Gelatinecylinder, absolut klar und durchsichtig, wird nun tüchtig gewässert und in 70%igem, später in 96%igem Spiritus gehärtet. Danach wird er, je nachdem die Absicht besteht, in Quer- oder Längsschnitte geteilt, je ein Stück mit Gummi oder Glyzeringelatine auf Kork geklebt und für 24 Stunden in absoluten Alkohol gelegt. Ehe man mit dem Mikrotom schneidet, wird die äusserste, sehr harte und feste Schicht abgetragen, um die Schnitte gleichmässig und dünner fertig zu bringen. Im Gegensatz zu gewöhnlichen Gewebsschnitten werden sie angetrocknet auf dem Objektträger gefärbt, entfärbt und aufgehellt. Zur Färbung eignet sich alkalische Methylenblaulösung (aber ohne Nachbehandlung mit 1/2%igem essigsaurem Wasser, nur mit Alkohol), sehr gut auch die Weigertsche und die Gramsche Methode. Bei dieser ist die Entfärbung der Gelatine nicht immer durch Alkohol allein möglich, wohl aber wenn man abwechselnd Nelkenöl und Alkohol auf das Präparat bringt; auch schickt

man zur Entfärbung vorteilhaft dem Alkohol eine kurze Einwirkung von Wasser voraus. Zur Aufhellung soll man das Bergamottöl verwenden.

Agarkulturen werden ebenfalls durch Erwärmung aus dem Reagensglas entfernt. Die Härtung gelingt entweder mit Kaliumbichromatlösung, wie bei der Gelatine, oder mit 1—10%igen Salpetersäurelösungen, worauf Wässerung und Einlegung in Alkohol von steigender Stärke folgt. Die einzelnen, nicht zu grossen Stücke werden dann nach Biondis Vorgang mit Bergamottöl durchtränkt, kommen in eine Mischung von leicht schmelzbarem Paraffin und Bergamottöl und schliesslich in reinem Paraffin 12—24 Stunden lang in den Brutofen. Nach der Erkaltung sind die Stücke sehr schön und leicht in feinste Schnitte zu zerlegen, die nun wieder rückwärts erst durch Bergamottöl ihres Paraffins beraubt und wieder in Alkohol gelegt werden. Von hier werden sie wieder auf dem Objektträger angetrocknet und wie die Gelatineschnitte weiter behandelt; ihre Färbung gelingt aber nie so schön, wie bei diesen.

Die **Bouillonkultur** lässt oft nicht unwichtige Unterschiede zwischen den einzelnen Bakterienarten erkennen, die als bezeichnend angesehen werden dürfen. Ihre Anlegung muss freilich mit besondrer Vorsicht und die Beurtheilung der gewachsenen Kultur mit genügender Skepsis geschehen. Denn stets ist die Möglichkeit vorhanden, dass ausser den absichtlich eingesäten Keimen durch Zufall oder Ungeschicklichkeit fremde mit hineingekommen sind. Wer Sicherheit im Arbeiten gewonnen hat, darf sich getrost der Bouillon bedienen, immer aber muss beim geringsten Zweifel an der Reinheit der Kultur die Prüfung mittels des Plattenverfahrens (Scheiben) vorgenommen werden.

Was die durch das Bakterienwachstum in der Bouillon hervorgerufnen Erscheinungen betrifft, so lässt ein Teil der Bakterien die Bouillon vollkommen klar, ein andrer trübt sie mehr oder weniger; in verschiednen Schichten kann sich ein Unterschied in der Trübung bemerklich machen. Die Beschaffenheit der trübenden Kultur ist je nach den einzelnen Bakterien anders; manche bilden dicke Wolken, manche nur eine nicht weiter differenzierbare diffuse Trübung.

Sodann ist auf eine etwa an der Oberfläche gebildete Haut zu rücksichtigen, ob gleichmässig oder wellig, glatt oder gerunzelt, dick oder dünn, zart oder derb, ob beim Umschütteln leicht zu zerstören oder nur abzubröckeln, leicht oder schwer untersinkend; ferner auf etwaige Gasblasen, die bei Gärungserregern gerne den Rand der Flüssigkeit besetzen.

Wichtig ist die Art des Bodensatzes. Er kann sein flockig, bröcklig, wie ein Fadengewirr, knäuelartig, wolkig, schleimig, dick oder dünn und von verschiedner Farbe. Beim Umschütteln verteilt er sich entweder rasch und gleichmässig in der überstehenden Flüssigkeit, oder nur in Form kleinster Bröckelchen, schneeflockenartig, oder er steigt als dichte Wolke auf, oder als zopfartiges Gebilde, ähnlich der Form einer Wasserhose und nur schwer vom Boden sich ablösend.

Bouillon fülle ich fast ausschliesslich in Medizinfläschchen von 30 g Inhalt zu 7—10 ccm. Meist kommt sie nach der Impfung in den Brutschrank. Wird sie bei Zimmerwärme gehalten, so muss sie dunkel stehen.

Kartoffeln sind bei der Prüfung des kulturellen Verhaltens einer Bakterienart nicht ausser acht zu lassen. Die Art des Wachstums auf ihnen ist für manche Bakterienarten bezeichnend. Der Typhusbazillus z. B. wächst oft nur als feucht glänzender Rasen darauf, ohne in ihrem Aussehen irgend etwas zu ändern; die Rotzbazillen

machen eine rotbraune bis fuchsrote Ansiedlung, der braunen Rotzkultur ähnlich ist die der Choleravibrionen. Interessant ist es, zu beobachten, wie ein und dieselbe Farbstoff bildende Bakterienart je nach der verschiednen Art und Beschaffenheit der Kartoffel ihre Farbe ändert, und für bestimmte Untersuchungen wichtig, dass die Sorte oder der Keimungszustand einen wesentlichen Einfluss auf das Wachstum und das Aussehen der Kulturen übt (S. 98). Gewisse Bakterien bilden dicke oder dünnere saftige, schmierige oder trockne, runzliche Ueberzüge. Letztere entstehen mitunter scheinbar von selbst auf Kartoffelstücken, die bereits eine ½—¾ stündige und sogar längere Erhitzung im strömenden Dampf durchgemacht haben. Wegen ihres häufigsten Fundortes hat man sie Kartoffelbazillen genannt. Sie hiessen besser Bodenbazillen, denn sie verdanken ihre Entwicklung Keimen, die von der Erde her an der Schale hafteten und bei der Durchschneidung der Knollen auf die Kulturfläche kamen.

Kartoffeln werden namentlich in halbierter Form oder in Scheiben zur Anlegung von Massenkulturen, z. B. zur Gewinnung von Milzbrandsporen, die sich auf ihnen reichlich bei Körperwärme bilden oder zur Einheimsung grösserer Ernten zur Darstellung von Bakterienproteïnen nach Buchner benützt.

Auch die Anlegung von Kulturen in sterilisierter **Milch** darf beim Studium der Lebenseigentümlichkeiten von Bakterien (namentlich bei kapseltragenden S. 177) nicht versäumt werden. Es ist hier auf das Eintreten und die Art von Gerinnungserscheinungen das Augenmerk zu richten, ob sie bald und gleichmässig koaguliert, oder ob sich das Kaseïn langsam am Boden abscheidet, während darüber klare oder trübe Molken bleiben u. dgl. Es empfiehlt sich für manche Fälle, die Milch durch Zusatz einiger Tropfen von Lakmus- oder Lakmoidtinktur blau zu färben, um zu sehen, ob der Farbstoff verschwindet oder sich verändert, und in welcher Reihenfolge diese Farbenunterschiede eintreten.

Andre Nährboden, als die genannten, sind von minderer, allgemeiner Wichtigkeit; so die frischen, oder die durchschnittnen gekochten Hühnereier, oder Milchreis, Fleisch-, Reisscheiben etc. oder der Harn; doch werden sie bei besondern Untersuchungen in ihr Recht treten, namentlich der keimfreie Harn für die in den Urinwegen und in diesem Sekret gefundnen Mikroorganismen.

Untersuchungen über Sporenbildung.

Sporen sind eine Fruchtbildung und dienen als Dauerformen einer Anzahl von Bakterien zur Erhaltung der Art selbst unter sehr ungünstigen, für andre Lebewesen unbedingt verderblichen Bedingungen. Als eine der hervorstechendsten Erscheinungen beobachten wir eine ausserordentliche Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen; dass sie Siedehitze minutenlang aushalten, ist keine Seltenheit, mir sind welche begegnet, die selbst bei sechsstündigem Aufenthalt im strömen-

den Dampf noch nicht abgestorben waren; sie hatten an Gelatinetafeln gehangen (C. 13. 649).

Mit Sicherheit hat man Sporen bis jetzt nur bei stäbchenförmigen Bakterien, den eigentlichen Bazillen, wahrgenommen und zwar immer derart, dass eine Zelle auch nur eine Spore enthält, die mittel- oder endständig ist, d. h. die sich in der Mitte oder näher dem einen oder andern Ende befindet oder ganz am Ende sitzt, es knopfförmig vortreibend: Trommelschläger- oder Kochlöffelform wie beim Bazillus des Tetanus, des Rauschbrandes u. a. Man fasst diese Formen als **endogene Sporen** zusammen, im Gegensatz zu den Arthrosporen (ἄρθρον das Glied; de Bary, Hueppe), die die Arterhaltung, u. a. namentlich bei den Kokken und Spirillen, besorgen und sich als meist rundliche, den Farbstoff weniger gut annehmende Glieder mit verdickter Membran differenzieren sollen. Am wichtigsten war die Gliedersporenfrage bei den Choleravibrionen. Die nach den epidemiologischen Erfahrungen wahrscheinliche, auch unter ungünstigen Verhältnissen, wie Kälte, Trockenheit ziemlich lange Lebensfähigkeit dieser Bakterien sollte dadurch dem Verständnis näher gerückt werden. Aber Nachprüfungen andrer Forscher konnten diese Auffassung nicht bestätigen; die in alten Cholerakulturen auftretenden rundlichen, kokkenähnlichen, schlecht färbbaren Gebilde sind jedenfalls als Entartungserscheinungen aufzufassen. Die endogene Spore ist die einzige, bis jetzt sicher erkannte Dauerfrucht. Sie ist von runder oder ovaler Form und zeichnet sich durch ihr starkes Lichtbrechungsvermögen als glänzendes Körperchen aus.

Recht gut lässt sich der Vorgang der Sporenbildung bei den Milzbrandbakterien verfolgen. Vortrefflich bringen ihn die Photogramme im Atlas von C. Fränkel und R. Pfeiffer zur Darstellung. Wir sehen erst das Protoplasma der **vegetativen Zelle** körnig, granuliert werden; in den von ihnen gebildeten Zügen und Schleifen machen sich dann zahlreiche, stärker Licht brechende Pünktchen bemerklich, die an Grösse und Umfang zunehmen, bis endlich in jeder Zelle die ovale, stark lichtbrechende, glänzende Spore fertig ist, so dass der ganze Scheinfaden ein perlenschnurartiges Ansehen gewinnt. Unter weiterm Verschwinden des Restes des vegetativen Zellteiles bleibt schliesslich die freie Spore übrig, die, wenn man einen Anilinfarbstoff einwirken lässt, nur von einem Saum färbbaren Plasmas umgeben erscheint, während ihre, äussern Einflüssen chemischer und physikalischer Natur bis zu einem gewissen, hohen Grade trotzende Membran den Eintritt des Farbstoffes ins Innere verhindert (Photogr. Taf. II, Nr. 10).

Haben wir in solcher Weise die Entstehung der Dauerform bei einer Bakterienart verfolgt, so muss in zweiter Linie der Beweis erbracht werden, dass und wie die Spore wieder zur vegetativen Zelle auskeimt. Dazu bringen wir eine kleine Menge in frisches Nährmaterial (Bouillon), legen davon hängende Tropfen im hohlgeschliffnen Objektträger an und beobachten, wie vorhin, durch zeitweise mikroskopische Untersuchung, wie das Gebilde an Glanz verliert, wie die allmählich gelockerte Membran am Ende oder seitlich — verschieden je nach den Bakterienarten — einreisst und der jungen vegetativen Zelle den Austritt gestattet. Für derartige Studien eignet sich vor allem ein Mikroskop mit Vorrichtung zur Erwärmung (S. 10).

Der Ursache der Sporenbildung sind wir durchaus noch nicht mit der wünschenswerten Klarheit auf die Spur gekommen, aus den bisherigen Beobachtungen lassen sich nur Wahrscheinlichkeitschlüsse ziehen. Nach Buchners Darlegungen (C. 8. 1) liegt sie in dem eintretenden Mangel an Nährmaterial, nicht an einem vorhandnen, denn zunächst müssen sich die vegetativen Zellen, woraus die Sporen hervorgehen, genügend entwickeln können. Erneuerte Buchner die Nährlösung häufig, so wurde die Sporenbildung hintangehalten, erfolgte aber bald, wenn die regelmässige Auffrischung unterlassen wurde. Da destilliertes Wasser den Milzbrandbazillen zur Vermehrung dienen kann, aber nicht für lange Zeit, so lässt sich darin eine sehr günstige Sporenernte erzielen. Buchner schlug seinerzeit für die Gewinnung reichlichen Sporenmateriales auf festem Nährboden den Fleischwasseragar in gewöhnlicher Weise zubereitet und alkalisiert, aber ohne Pepton vor, und wir benützen ihn neben der Kartoffel mit Vorliebe zu diesem Zwecke.

Zum **Nachweis,** dass die in Bakterien mikroskopisch gesehenen hellglänzenden Körperchen in der That Sporen sind (S. 177), kommen drei Punkte in Betracht.

1. Die **direkte Verfolgung** der Bildung der Spore in der vegetativen Zelle und des Auswachsens dieser Zelle aus der gebildeten Spore in der üben angegebnen Weise entweder durch zeitweise Entnahme von Proben aus der auf festem Nährboden angelegten Kultur, die bei geeigneter Temperatur gehalten wird, oder durch fortgesetzte Beobachtung des hängenden Tropfens unter dem gewärmten Mikroskop.

Hat man eine Anzahl hängender Tropfen angelegt und dem Brutschranke übergeben, so kann man sie, wenn eine in Zwischenpausen vorgenommene Untersuchung besonders hübsche oder lehrreiche Bilder gibt, leicht fixieren, wenn man das Deckglas vorsichtig abhebt und den Tropfen im Exsikkator oder unter gelinder Erwärmung im Trockenschranke rasch verdunsten lässt. Nach Entfernung des Vaselinringes mit Chloroform folgt Fixierung in der Flamme, Färbung und Einschluss in Kanadabalsam.

2. Die **Färbung;** unter gewöhnlichen Bedingungen negativ ausfallend, gelingt sie erst nach Einwirkung gewisser intensiv wirkender, die Membran lockernder und die Spore tötender Mittel chemischer oder physikalischer Natur.

Buchner, der die erste isolierte Sporenfärbung zuwege brachte, bediente sich der konzentrierten Schwefelsäure oder der starken Kalilauge. Jene ist vorzuziehen. Das dreimal durch die Flamme gezogne Präparat wird nach Buchner etwa 25 Sekunden lang mit der Säure in Berührung gelassen; nach gründlicher Abspülung wird in der gebräuchlichen Weise gefärbt. Die Sporen sind dann — aber durchaus nicht immer — intensiv vom Farbstoff durchdrungen und liegen teils noch innerhalb der Zellen teils ausserhalb, offenbar infolge eingetretener Quellung des Protoplasmas herausgedrückt, während der vegetative Teil der Bazillen sein Farbstoffaufnahmevermögen grösstenteils eingebüsst hat (Photogr. Taf. II, Nr. 11).

Auch durch trockne Hitze (210°), die längere Zeit einwirkte, erzielte Buchner dieselben Resultate.

Gleichzeitig und unabhängig von diesem Gelehrten hatte Hueppe durch 7—10malige Durchziehung des Deckglaspräparates durch die Flamme die Sporen färbbar machen können.

Von Neisser und Hueppe rühren die ersten gelungnen Doppelfärbungen her. Da die Tinktion nicht selten lange Zeit beansprucht, ist es besser, statt die Farblösung auf dem Präparat über der Flamme zu erwärmen, Deckgläser mit der Präparatseite nach unten auf die in einem Uhrglase oder einer kleinen Abdampfschale befindliche Anilinölwasserfuchsin- oder Karbolfuchsinlösung (erstere ist geeigneter) zu legen. Untersinken schadet nicht. Dieses Schälchen stellt man auf den Ring eines Statives, denn beim einfachen Darüberhalten mit der Pinzette zerbricht es zu leicht. Nun setzt man eine kleine, das Schälchen nicht berührende Flamme unter und erhitzt bis zum Sieden, was oftmals wiederholt wird. Die Färbung beansprucht auch bei einem vorher zehnmal durch die Flamme gezognen Präparate von Milzbrandsporen oft Stunden. Die Farblösung mit den Deckgläsern kann auch im Dampfapparat stundenlang erhitzt werden. Danach spült man entweder wie bei der Tuberkelbazillenfärbung in verdünnter Schwefelsäure (1 + 4 Wasser) und 60%igem Alkohol ab, oder bloss in verdünntem Alkohol und färbt mit Methylenblaulösung ½ Minute nach, damit die roten Sporen sich schön vom blauen vegetativen Teil abheben.

Hauser stellte Doppelfärbungen von Lungensarcinen auf ähnliche, aber einfachere Weise her. Das dreimal durch die Flamme gezogne Deckglaspräparat wurde mit mässig konzentrierter Fuchsinlösung bedeckt, 40—50mal in die Flamme eines Bunsenbrenners geführt und jedesmal bis zum Aufsteigen von Dämpfen und Erheben kleiner Bläschen darin gehalten, bei zu raschem Verdampfen Farblösung nachgeträufelt. Hierauf ¼—1 Minute Eintauchen in 25%ige Schwefelsäure, Wasserspülung, Nachfärbung mit schwacher wässriger Methylenblaulösung. Auch Sporen von Bakterien (Milzbrand, Heubazillus, Tetanusbazillus u. s. w.) liessen sich also färben (M. 87. 654).

Raschheit in der Ausführung rühmt R. Fiocca der von ihm angegebnen Färbung mit Zuhilfenahme von Ammoniak nach:

10%ige Ammoniaklösung 20 ccm.

Alkoholische Lösung einer Anilinfarbe 10—20 Tropfen.

Diese Lösung wird bis zur Entwicklung von Dämpfen in einer Schale erhitzt. Dann kommen die Präparate auf 3—15 Minuten hinein, worauf sie in 20%ige (= 1 + 4) Schwefelsäurelösung übertragen und nach Abspülung in Wasser mit einer passenden Gegenfarbe gefärbt werden. Die beiden Zeiten: Säureeinwirkung und Gegenfärbung können in eine zusammengezogen werden, indem man die Präparate 2—3 Minuten in einer Auflösung der Gegenfarbe in diesmal 10%iger Schwefelsäure belässt (C. 14. 8).

Oft wollen aber solche Färbungen gar nicht gelingen. Dutzende von Präparaten kann man fertigen, ohne die Sporen rot zu erhalten. Ein andermal erzielt man gute Ergebnisse, je nach dem Material, das man vor sich hat. Bloss um hübsche Präparate in seine Sammlung zu bekommen, lohnt sich der Aufwand an Zeit und Mühe wirklich nicht, wenn nicht gleich die ersten Versuche anschlagen. Auch wissenschaftlich ist der Gewinn kein grosser, da wir in der direkten Beobachtung der Bildung und des Auswachsens der Sporen und in der biologischen

Prüfung der Widerstandsfähigkeit gegen Hitze etc. untrügliche Kennzeichen besitzen.

Noch dazu scheint aber das, was sich bei manchen Bakterien durch die „Sporenfärbungsmethoden" darstellen lässt, durchaus nicht immer mit den Sporen etwas zu thun zu haben. War es für mich befremdend, dass Möller bei den Bakterien der blauen Milch, bei denen nach meinen eingehenden Untersuchungen (K. A. 5. 518) eine Sporenbildung mit Sicherheit auszuschliessen ist, Sporenfärbung erzielt haben wollte, so befriedigte mich der auf Grund von Untersuchungen über die Hefesporen später erfolgte Ausspruch dieses Forschers, dass lediglich das Vorhandensein einer deutlichen Sporenmembran und die direkte Beobachtung der Keimung der Spore das einzig sichere Kriterium böten, keine der Sporenfärbungsmethoden aber eine sichere Feststellung der Sporennatur mehr ermöglichte (C. 12. 550).

Jedoch verfehle ich nicht, noch der Mazerationsmethode von Möller (C. 10. 273) zu gedenken, die im Prinzip der Buchnerschen Schwefelsäure- oder Laugebehandlung ähnlich, die Auflockerung der Membran mit 5%iger Chromsäurelösung oder mit einer schwächer wirkenden, den vegetativen Teil der Zellen weniger angreifenden, konzentrierten Lösung von Chlorzinkjod bezweckt. Wo solche weniger intensiv eingreifende Mittel zum Ziele führten, verwendete Foth mit Vorteil Wasserstoffsuperoxyd (10fach von Schering mit circa 2,7 Gewichtsprozenten. C. 11. 272). Ein von Möller als wahrscheinlich erachtetes, bestimmtes umgekehrtes Verhältnis zwischen Färbbarkeit und Widerstandsfähigkeit, das sich zur Messung der letztern für diagnostische Zwecke verwerten liesse, konnte Foth nicht bestätigen. Da sich auch andre Gebilde, als Sporen (Fetttröpfchen, Lezithin, Cholestearin) dabei färben, so soll der Färbung eine Behandlung mit Chloroform vorangehen, das diese Substanzen löst. Das Verfahren vollzieht sich in folgender Weise:

Präparat dreimal durch die Flamme ziehen.
In Chloroform 2 Minuten.
Wasserspülung.
5%ige Chromsäurelösung: ½—2—5—10 Minuten; oder bei weniger widerstandsfähigen Sporen konzentrierte Lösung von Chlorzinkjod: 5 Minuten.
Wasserspülung.
Karbolfuchsin 60 Sekunden in der Flamme erwärmen.
Abgiessung des Karbolfuchsins.
Eintauchung in 5%ige Schwefelsäure bis zur Entfärbung.
Wasserspülung.
Wässrige Lösung von Methylenblau oder Malachitgrün: 30 Sekunden.
Wasserspülung.

3. Der letzte Beweis für die erfolgte Bildung von Dauerformen wird durch die **Prüfung der Widerstandsfähigkeit** gegen chemische und physikalische Einflüsse, am besten gegen hohe Hitzegrade geliefert. Die Sporen werden in Emulsion gebracht und aufgekocht, oder an Seidenfäden angetrocknet dem Dampfapparat übergeben (s. Desinfektion), oder wenigstens die Kultur bei einer der Siedehitze nahe kommenden Erwärmung im Wasserbade gehalten und von Zeit zu Zeit Proben zur Aussaat entnommen. Wenigstens 1 Minute lang 100° oder ½—¾ Stunden lang 80° ertragen die Dauerformen und manche, wie erwähnt, noch bedeutend mehr.

Von den chemischen Mitteln kommen nur die stark wirkenden (Sublimat etc.) in Betracht. Sterben die Keime in schwachen Antisepticis, wie Salicylsäurelösungen u. dgl. schon binnen Minuten oder Bruchteilen einer Stunde ab, so kann, wenn das Desinfiziens nachzuwirken verhindert war (Abspülung oder Neutralisierung!), von Sporen nicht die Rede sein.

Austrocknungsversuche sind weniger sprechend; denn auch nicht Sporen bildende Bakterien (Typhus-, Tuberkelbazillen u. a. m.) können die Trocknung monatelang ertragen.

Hinsichtlich der besondern Anordnung derartiger Untersuchungen verweise ich auf die Desinfektionsversuche mit Chemikalien.

Ist Sporenbildung nachgewiesen, so muss u. a. entschieden werden, wo die **beste Wärmebreite** für sie liegt; durch Aussaaten, die bei möglichst weit auseinanderliegenden Temperaturen gehalten werden, wird zunächst die obere und untere Grenze festgestellt, ähnlich wie später (S. 199) bei der Ermittlung des Temperaturoptimums für die Bakterien beschrieben werden wird; nur ist die Untersuchung bei Sporen schwieriger. Wenn auch die für die Bildung der Dauerform erforderliche Temperatur im allgemeinen nicht mit der das Wachstum noch ermöglichenden zusammenfällt, sondern die unterste Grenze meist etwas höher, die oberste etwas tiefer liegt, so lässt sich das experimentell doch nicht so leicht feststellen. Beispielsweise nehmen wir mit Koch an, dass die Milzbrandbazillen etwa bei 18⁰ erst Sporen bekommen, während sich die vegetativen Zellen noch bei niederer Temperatur entwickeln; feste Regel ist das aber nicht; denn sicher sporenfreies Material lässt sich auch unter dieser Grenze nicht erzielen; wollen wir solches erhalten, so müssen wir auf das Blut von frisch dem Milzbrand erlegnen Tieren zurückgreifen; denn im Tierkörper bildet der Milzbrandbazillus niemals Sporen.

Wegen seines leichten mikroskopischen Nachweises, seiner bezeichnenden Merkmale in der Kultur, in Anbetracht ferner seiner hervorragenden pathogenen Eigenschaften, besonders für unsre gebräuchlichen Versuchstiere, die weissen Mäuse und Meerschweinchen, aber auch für viele andre, endlich wegen der Möglichkeit, nach Belieben sporenfreies und andrerseits hochwiderständiges, sporenhaltiges Material zur Hand zu haben, hat sich der Milzbrandbazillus, wie nicht leicht ein andrer, zu wissenschaftlichen Forschungen geeignet erwiesen.

Nur die Erzielung grösserer Mengen sporenfreien, reinen Materials macht Schwierigkeiten. Denn kaum gelingt es, derart keimfrei zu arbeiten, dass bei der Einsammlung von Blut oder Organsaft jegliche Verunreinigung von aussen ferngehalten wird.

Vielfach hat man sich bemüht, sporenfreie Bazillen, die die Eigenschaft, Sporen zu bilden, auf Generationen hinaus abgelegt haben, auf künstlichem Wege in der Kultur zu erlangen. Die verschiednen dahin abzielenden Methoden haben das Gemeinsame, sich chemischer oder physikalischer Mittel zu bedienen, die längere Zeit und wiederholt schädigend auf die Bakterien einwirken, bis sie ihr Fruchtbildungsvermögen endgültig verloren haben. Infolgedessen war es unvermeidlich, dass durch solche Eingriffe auch andre Eigenschaften

und Verrichtungen dieser kleinen Lebewesen mehr oder minder beeinträchtigt wurden, in erster Linie ihre Virulenz.

Bei den Nachprüfungen der Pasteurschen Forschungen über die künstliche Abschwächung der Milzbrandbazillen zur Gewinnung eines zur Schutzimpfung verwendbaren Stoffes im Kaiserlichen Gesundheitsamte durch Koch, Gaffky und Löffler (K.M. 2. 147) stellte es sich heraus, dass in tiefen Flüssigkeitschichten durch Temperaturen von 42—43° die Sporenbildung hintangehalten wurde. In spätern Kulturen aber setzt sie wieder ein. Phisalix hat nun den Versuch gemacht, sie durch länger währenden Einfluss der höhern Wärmegrade dauernd zu unterdrücken: Eine Milzbrandkultur wird einige Zeit bei 42° gehalten. Dann impft man von ihr zwei Kölbchen ab, von denen das eine bei 30°, das andre wieder bei 42° bleibt. Von dieser Kultur wird nach einigen Tagen wieder abgenommen u. s. w. Schliesslich gehen die Kulturen bei 42° nicht mehr recht an, die gleichzeitig bei 30° angelegten aber entwickeln sich üppig, haben jedoch die Fähigkeit der Sporenbildung vollständig verloren (H. 2. 733). Aber nur so lange künstlich in gewöhnlichen Nährmitteln gezüchtet wurde. Denn Hindurchschickung durch den Meerschweinchenkörper, selbst Züchtung in Bouillon, der etwas Meerschweinchenblut zugesetzt war, stellte jene Fähigkeit wieder her (H. 2. 1019).

Vorübergehende Verhinderung erzielte Behring (Z. 6. 127) durch Zusatz verschiedner entwicklungshemmender, chemischer Mittel zu Blutserum. Dauernd sporenfreie Bazillen gewann Roux (P. 4. 25) auf folgende (bei der Nachprüfung von mir etwas veränderte) Weise:

Reagensröhrchen mit je 10 ccm leicht alkalischer Bouillon erhalten einen Zusatz von 2 : 10 000, 4 : 10 000 u. s. w. bis 20 : 10 000 Karbolsäure (man nimmt eine 2%ige, mit keimfreien Mess- und Aufnahmegefässen und keimfreiem Wasser bereitete Karbolsäurelösung und setzt zu jedem Bouillonröhrchen mittels sterilisierter, graduierter Pipette — 1 ccm in 1/10 Teile geteilt — 0,1, 0,2 . . . bis 1,0 ccm am besten unter Zählung der Tropfen). Die zehn karbolsäurehaltigen Röhrchen werden nebst einem elften zur Kontrolle mit je einer Oese unter allen aseptischen Vorsichtsmassregeln entnommenen Blutes eines soeben dem Milzbrand erlegnen Tieres geimpft. Dabei ist für gehörige Verteilung des Blutes in der Bouillon Sorge zu tragen, damit keine Spur an der Innenwand des Gläschens dem Luftzutritt ausgesetzt bleibt und der Wirkung des Antiseptikums entzogen ist. Die Proben kommen in den auf 30—37° eingestellten Brutschrank. Mit steigendem Karbolzusatz wird sich in der Folge eine Verminderung der Entwicklung der Milzbrandbakterien geltend machen: in den letzten Röhrchen bleibt sie ganz aus; sollte sie an der Oberfläche der Flüssigkeit im einen oder andern Gläschen sichtbar werden, so wird die dort entstandne Wolke alsbald durch Umschütteln in der klaren Bouillon verteilt (Trübung bedeutet Verunreinigung).

8—10 Tage nach der Aussaat wird von jeder Probe eine Glaskapillare, die in der Mitte eine Erweiterung hat (Fig. 115), vollgesaugt, abgeschmolzen, in einen grossen Topf mit Wasser neben das Quecksilbergefäss des Thermometers auf einen durchlöcherten Blecheinsatz gelegt und 15 Minuten lang auf 65° erwärmt, wodurch die vegetativen Zellen getötet werden. Dann wird die Kapillare herausgenommen, zwischen

Filtrierpapier vorsichtig getrocknet, an den Spitzen mit der Pinzette abgebrochen und Inhalt unter Zuhilfenahme eines übergesteckten Glasröhrchens in frische Bouillon oder auf Agarplatten ausgeblasen. Nur wenn sich in der karbolisierten Bouillon Sporen gebildet hatten, wird eine Entwicklung stattfinden.

Ich habe wiederholt dieses Verfahren nachgemacht, allein nicht die gewünschten Ergebnisse erzielt. Zwar konnte ich feststellen, dass die von Roux angegebne Phenolmenge gerade richtig ist, um in etwas mehr als der Hälfte der Proben noch Wachstum zu erhalten. Aber auch die letzten, in denen es eben noch erfolgt war, erwiesen sich, obwohl die Kolonie sicher nur in der Tiefe der Bouillon lag, beim Erhitzungsversuch entweder überhaupt nicht sporenfrei, oder wenn sie es waren, erlangten sie ihre Fähigkeit, Sporen zu bilden, bei der Weiterzüchtung wieder.

Ob wir ein sicheres Verfahren besitzen, solche „asporogene Milzbrandbazillen", die dauernd asporogen bleiben, zu erzielen, muss ich nach meinen Versuchen als dahingestellt gelten lassen, vielleicht leistet das Verfahren nach Phisalix besseres. Uebrigens bringt es mitunter ein glücklicher Zufall, dass man asporogenen Milzbrandbazillen begegnet, die es auf nicht festzustellende Weise geworden sind; K. B. Lehmann hat solche in einer jahrelang auf Gelatine fortgezüchteten Kultur entdeckt, die sich auf keine Weise in die sporogene Form zurück verwandeln liessen (M. 87. 485).

Um so leichter gelingt es, Sporen allein, von vegetativen Zellen befreit, zu erhalten. Man braucht nur die Kultur genügend lange der Entwicklung im Brutschrank zu überlassen und schaltet dann etwa noch übrig gebliebene, nicht zur Sporulation gekommene Bazillen durch Erhitzung aus. Man kann 1—2 Stunden im Wasserbade von 70—80° behandeln, ohne die Entwicklungsfähigkeit der Sporen aufzuheben.

Beim Tetanusbazillus stellte sich nach den Untersuchungen von Vaillard und Vincent (P. 5. 1) dabei die merkwürdige Thatsache heraus, dass sie, obwohl noch nicht abgestorben, doch ihrer Eigenschaft Tiere (Meerschweinchen) zu infizieren, verlustig gegangen waren; es scheinen demnach zur Hervorrufung des Krankheitsbildes gewisse giftige Stoffe, die den Tetanusbazillen anhängen und durch die gedachte Wärmeeinwirkung unschädlich gemacht werden, notwendig zu sein, was aber Klipstein auf Grund seiner Experimente (H. 3. 1) bestreitet.

Untersuchungen über das Fortkommen von Bakterien in verschiednen Wärmebreiten

müssen bei jeder näher zu studierenden Mikroorganismenart angestellt werden und in ihren Ergebnissen in Uebereinstimmung mit den natürlichen Verhältnissen zu bringen sein. Viele Bakterienarten besitzen nun allerdings die Eigenschaft, innerhalb einer grossen Wärmebreite wachsen zu können, einer grossen Anzahl andrer aber sind engere Grenzen gezogen. Gelingt die künstliche Züchtung eines Krankheitserregers bei Zimmerwärme, so schliessen wir, dass er unter Umständen auch ausser-

halb des Körpers in der Natur seine Daseinsbedingungen ohne wesentliche Schwierigkeiten findet, ist sie aber nur bei einer der Körperwärme sehr naheliegenden Temperatur möglich, so spricht das für ein Vorhandensein hoher parasitischer Begabung. Andrerseits lässt sich eine ganze Menge von Saprophyten gar nicht bei Graden über 25—30 zur Entwicklung bringen, so z. B. sehr viele der eigentlichen „Wasserbakterien“ nicht. Das mehrfach erwähnte Bacterium cyanogenes, jenes Kurzstäbchen, das unter dem Einfluss der säuernden Wirkung des Bacterium acidi lactici die in manchen Milchwirtschaften so häufigen himmelblauen Flecken auf der in Satten aufbewahrten Milch erzeugt, entfaltet sein bestes Wachstum und seine Farbstoffbildung, wenn die Temperatur um 20° beträgt. Derartige Beobachtungen lassen von vorneherein den Schluss zu, dass ein solches Kleinwesen bei Warmblütern keine krankheitserregende Wirkung äussern kann, weil es im Körper eine der Hauptbedingungen für sein Fortkommen vermisst.

Das den Bakterien überhaupt und ihrem Wachstum günstige Klima bewegt sich im ganzen und grossen, soweit bis jetzt bekannt, zwischen 0 und 70°. Früher nahm man 5° als die unterste Grenze an. Dagegen lieferte Forster (C. 12. 431) zuerst an einem Leuchtbazillus und nachher an verschiednen, aus Wasser, Milch, Erde, Strassenschmutz erhaltnen Arten, deren Kulturen in einem mit vierfachen Wänden umgebnen Eisraum gehalten wurden, den Nachweis, dass selbst bei 0° Vermehrung der Keime, mit Erzeugung von Farbstoff, Gasen, Licht und chemischen Umsetzungen verbunden, erfolgen kann. Diese Beobachtung hat praktische Bedeutung für die Konservierung von Lebensmitteln, ferner für die Ausführung bakteriologischer Untersuchungen von Wasserproben. Es ist nach diesen Erfahrungen nicht unwahrscheinlich, dass Bakterien auch bei Kältegraden zu gedeihen vermögen, doch fehlte es bislang an geeigneten Laboratoriumeinrichtungen für diesen Nachweis.

Mit steigender Wärme nimmt die Zahl der Bakterien, die ihr Keimungsvermögen bethätigen können, immer mehr zu, und 15—20° bilden bereits eine Grenze, bei der viele Mikroorganismen ihr „Temperaturoptimum“ haben. Für die Krankheitserreger liegt es bei Körpertemperatur. Aber schon von 40° an kommen nur wenig Arten mehr fort, selbst pathogene Bakterien fangen bei dieser Wärme an, ein kümmerliches, kränkelndes Dasein zu fristen. Bei 50° und schon darunter sterben sporenfreie Bakterien in nicht zu langer, nach Minuten zu bemessender Frist vielfach ab. Merkwürdigerweise gibt es aber noch eine Gruppe, die ihr Optimum überhaupt erst bei dieser Temperaturhöhe hat, ja verhältnismässig gar nicht wenige gedeihen zwischen 50—70°. Globig (Z. 3. 294) isolierte aus dem Erdboden etwa 30 und zwar fast lauter Stäbchenarten, die in derartiger Hitze leben, eine Thatsache, die uns schon darum überraschen muss, weil wir von vorneherein nicht vermuteten, dass der Boden unsrer Zone eine genügend lange Zeit so hoch erwärmt wäre, um das Vorhandensein solcher Lebewesen erklärlich zu machen.

Zur Ermittlung des **Temperaturoptimums** macht man zunächst einen Orientierungsversuch: Die zu prüfende Reinkultur wird ausgesät auf je zwei Röhrchen mit

schräg erstarrtem, festem Nährboden (Agar; Blutserum);
gerade „ „ „ (Agar);
Nährbouillon.

Je eine dieser Proben kommt in den Brutschrank, die andre bleibt bei Zimmerwärme dunkel stehen; zu diesen fügt man noch je ein Röhrchen mit gerade und eins mit schräg erstarrter, geimpfter Gelatine. Dann legt man eine Tabelle mit Angaben über Datum, Wärme des Brutschrankes und des Zimmers, Herkunft der Kultur an und vervollständigt sie in ein- oder mehrtägigen Zwischenräumen mit den nötigen Aufzeichnungen. So lässt sich am ersten herausbringen, ob die Zimmer- oder Körperwärme dem betreffenden Kleinwesen besser zusagt.

Zur Erforschung der engern Grenzen sind mehrere, auf bestimmte, verschiedne Wärmegrade genau eingestellte Brutschränke erforderlich, oder — was in heisser Jahreszeit schwieriger — Kasten mit bleibender niedriger Temperatur von 5—10, 10—15° (in unsern Eisschränken geht sie selten unter 7° herab). Steht kein Eisschrank zur Verfügung, so ist vielleicht kaltes Leitungswasser vorhanden, das einen doppelwandigen Kasten mit ständigem Zu- und Abfluss kühlen kann.

Mit ihrer Hilfe muss man ergründen, bei welchen Graden die Lebensvorgänge der Kleinwesen am energischsten vor sich gehen, was sich allein am besten mittels Bestimmung der Grösse der von den Bakterien abgegebnen Kohlensäure und des von ihnen aufgenommenen und zurückgehaltnen Sauerstoffs erkennen lässt (s. die Hessesche Methode S. 204).

Untersuchungen über die Vermehrungsgeschwindigkeit von Bakterien

haben Buchner, Longard und Riedlin (C. 2. 1) ausgeführt: Bedingungen zur Gewinnung möglichst richtiger Werte sind nach Buchner günstige Ernährung- und Temperaturverhältnisse für die absolut reine Kultur, die kräftig sein muss. Die Zahl der in das Nährmittel ausgesäten Keime ist zu bestimmen, ebenso die Zahl der am Schlusse des Versuches vorhandnen. Dessen Zeitdauer muss genau bekannt und so kurz bemessen sein, dass eine nennenswerte Anhäufung von Zersetzungprodukten in der Nährlösung nicht eintreten kann (2—5 Stunden).

Die Ausführung gestaltet sich also: Aus einer Bouillonreinkultur wird eine kleine Platinöse voll in 50 ccm keimfreie, 0,6 %ige Kochsalzlösung übertragen, tüchtig geschüttelt und aus dieser Verdünnung 1 ccm, mittels steriler Pipette entnommen, in 50 ccm Bouillon übertragen. Daraus werden nun sofort 3 („primäre“) Plattenkulturen mit je 1 ccm der Lösung angelegt; so erfährt man die Grösse der Aussaat. Nach der Entnahme wird die Nährlösung, die schon vor der Einsaat auf 37° gebracht worden war, bei dieser Temperatur für eine bestimmte Zeit (2—5 Stunden) belassen. Danach werden abermals mit je 1 ccm der Lösung mittels steriler Pipetten 3 („sekundäre“) Plattenaussaaten gemacht, die nunmehr die bei Schluss des Versuches vorhandne Keimzahl ergeben.

Die Zählung der entwickelten Kolonien muss der Genauigkeit halber unterm Mikroskop erfolgen (s. beim Wasser).

Kennt man dann die Zahlen der Aussaat der primären Platten, sowie die der Ernte auf den sekundären Platten, so lässt sich die Grösse der Generationsdauer oder die Vermehrungsgeschwindigkeit nach der Formel:

$$a \cdot 2^n = b; \qquad 2^n = \frac{b}{a}; \qquad n = \frac{\log b - \log a}{\log 2}$$

berechnen, wobei bedeutet:

a (Aussaat) = Zahl der Kolonien auf den primären Platten im Durchschnitt.

b (Ernte) = Zahl der Kolonien auf den sekundären Platten im Durchschnitt.

n = Zahl der Generationen.

Auf diese Weise wurde unter anderm ermittelt, dass aus 149 Keimen des Choleravibrio bei 37° binnen 3 Stunden 96000 Keime geworden waren, und dass sich das Minimum der Generationsdauer bei diesen Bakterien auf 20 Minuten erstreckte, wobei vorausgesetzt ist, dass bei dem Vermehrungsvorgang aus einer Zelle immer zwei neue, niemals mehr oder weniger, hervorgehen.

Untersuchungen über Anaërobiose.

Ob eine Bakterienart zu den obligaten oder fakultativen Aërobiern gehört, darüber gibt folgende einfache Anordnung wenigstens einen Ueberblick. Etwa 10 ccm Nährgelatine werden in einem nicht zu weiten Reagensröhrchen geimpft, mit dem Material gut gemischt und dann erstarren lassen. Wachsen in der Folge nur in den obersten Schichten Kolonien aus, so haben wir strenge Aërobier vor uns, erscheinen sie gleichmässig in der Säule verteilt, fakultative Aërobier, entwickeln sie sich aber nur in den tiefen Schichten, strenge Anaërobier (C. Fränkel C. 3. 737).

Für weitere Prüfungen und Züchtungen wird sich aber ausser dem Zusatz reduzierender Mittel, wie indigschwefelsauren oder ameisensauren Natrons zum Nährboden der Ersatz der Luft durch Wasserstoff, oder die Wegnahme des Luftsauerstoffs mittels Pyrogallussäure in alkalischer Lösung nicht umgehen lassen, während die Entfernung der Luft mit der Pumpe am wenigsten gebräuchlich, auch nicht ein leicht und zugleich absolut sicher zum Ziele führendes Verfahren ist. Für Plattenkulturen bediene ich mich am liebsten der Botkinschen Kammer (S. 144), für Kulturen in Flüssigkeiten des Abschlusses unter Wasserstoff, für solche auf festen Nährboden der hohen Schichte unter Zuhilfenahme der reduzierenden Mittel und des Pyrogallolverfahrens; bei der Fortzüchtung von Reinkulturen kann man letzteres auch weglassen.

Bestimmung des spezifischen Gewichtes von Bakterien.

Rubner hat zum Studium der Absetzung der Bakterien in Flüssigkeiten Kartoffelkulturen von Wasserbakterien vorsichtig abgenommen und deren spezifisches Gewicht festgestellt.

Dazu wurden kleine, für manche Kulturen über 1 ccm fassende, an den Enden parallel abgeschliffne Röhrchen genau mit Quecksilber kalibriert; sie waren, um das Quecksilber fassen zu können, an der einen Seite provisorisch durch ein Deckgläschen geschlossen.

Nachdem der Kubikinhalt solcher Röhrchen ausgemessen worden war, wurden sie von der einen Seite aus mit einem kleinen Spatel und unter Vermeidung von Luftblasen gefüllt und schliesslich an beiden Seiten durch Abstreichung geebnet. Dann folgte die Wägung. Division des Gewichtes der Bakterienmasse durch den Kubikinhalt ergab das spezifische Gewicht (A. 11. 385).

Nachweis der bekannten, wichtigeren, bei der Entwicklung der Bakterien gebildeten Stoffe.

Die einfache Wahrnehmung des Geruchsinnes lässt bereits die Bildung **flüchtiger Stoffe** in den Ansiedlungen erkennen. Am auffälligsten pflegt sie bei den Anaërobiern zu sein; sofort nach Eröffnung der unter Luftabschluss gehaltnen Gläser entströmt ein eigentümlicher, durchdringender, widerlicher Geruch. Weniger ist dies in den nur mit Watte verschlossnen Proberöhrchen mit Kulturen von Aërobiern sinnfällig; mehr schon beim Abheben des Deckels von feuchten Kammern, worin eine Anzahl von Platten aufbewahrt worden sind; recht deutlich, wenn ganze Serien von Kulturen zusammen in einem verschlossnen Schranke gestanden haben. Solche Eindrücke lassen sich meist schwer beschreiben, wer aber Gelegenheit gehabt hat, ganze Sammlungen von Kulturen der Choleravibrionen, der Bakterien der blauen Milch, der kleisterartig riechenden gelben Traubenkokken und andre in dieser Weise isoliert anzutreffen, wird sich der bezeichnenden Gerüche im gegebnen Falle wieder erinnern können.

Der Nachweis von **Schwefelwasserstoff**, der, wie schon lange bekannt, von vielen Bakterien unter Veränderung des Nährmaterials in grösserer oder geringerer Menge gebildet wird*), wurde im Blut und in den Organen einer Anzahl von an Rotlauf erkrankten Schweinen zuerst von Petri und Maassen (K. A. 8. 318) auf spektroskopischem Wege erbracht; demnächst auch in den Kulturen von Rotlaufstäbchen und andern krankheitserregenden, wie nicht pathogenen Bakterien. Er gestaltete sich nach einigen Vorversuchen mit blankem Silberblech, Nitroprussidnatrium und der von E. Fischer empfohlnen

*) Siehe Rubner, Stagnitta-Ballisteri, Zörkendörfer (A. 16; 10. 53. 78. 369).

Methylenblaureaktion*) in folgender von diesen Forschern angegebnen einfachen Weise:

In den zum Verschluss der Kulturgefässe dienenden Wattepfropfen wurde ein zusammengerollter Streifen Bleipapier**) eingeschaltet und alsdann das Gefäss zur Abhaltung des etwa von aussen hinzutretenden Schwefelwasserstoffs mit einer Gummikappe verschlossen. Zur Ausrüstung mit diesem Reagenspapier wurde unmittelbar nach erfolgter Bakterieneinsaat die Verschlusswatte aus dem Halse des Gefässes etwas herausgezogen, der Pfropfen mit einer Schere abgeschnitten und auf seine untere, wieder tiefer ins Gefäss hinabgeschobene Hälfte das auf die Kante gestellte Bleipapierröllchen aufgesetzt; dann folgte der obere Teil des Wattepfropfens und darüber kam die Gummikappe. Die Bildung des Schwefelwasserstoffs machte sich zuerst an den untern Stellen des Streifens durch die bekannte Bräunung oder Schwärzung bemerkbar und erst nach längerer Zeit wurde bei ausreichender Entwicklung des Gases der ganze Streifen schwarz. Selbst Spuren des Schwefelwasserstoffs entgingen so der Beobachtung nicht, nur musste man den Bleipapierstreifen von Zeit zu Zeit besichtigen, denn es kam vor, dass geringfügige Spuren von anfangs gebildetem Schwefelblei durch den Einfluss des Luftsauerstoffs und der Feuchtigkeit mit der Zeit zu weissem Bleisulfat oxydiert wurden.

Zörkendörfer fand die Schranksche Methode als die günstigste, bei der die Wattepfropfen in sterile, gekochte Bleizuckerlösung getaucht werden; Zusatz von etwas Alkohol befördert die Benetzung der Watte.

Die in der Folge zu beobachtende Braunfärbung des Bleipapiers oder der Bleiwatte ist freilich nicht eindeutig. Denn nach Rubner bleibt es unentschieden, ob sie Schwefelwasserstoff oder die in den verschiedensten eiweisshaltigen und eiweissfreien Körpern vorkommenden **Merkaptane** anzeigt, wie sie z. B. bei der natürlichen Fäulnis regelmässig, jedoch auch (von Nencki) in Reinkulturen von Bakterien nachgewiesen werden konnten (H. 3. 525).

Die Bildung von andern **Gasen**, wie sie vor allem bei Gärungserregern reichlich statt hat, macht sich in Stichkulturen an Platzungen und, wenn der Druck die Festigkeit des Nährbodens nicht völlig zu überwinden vermochte, in Gestalt von blasenförmigen Auftreibungen innerhalb der Gelatine- oder Agarsäule bemerklich, bei Flüssigkeiten sammelt sich an der Oberfläche wohl auch Schaum.

In solchen lässt sich ein Gärungsvorgang am einfachsten mittels der von Dunbar angegebnen Gärungsröhrchen erkennen (s. Fig. 105a).

Eine Glasröhre von etwa 8 mm Durchmesser und 39 cm Länge wird an einem Ende zugeschmolzen, dann U-förmig gebogen in der Weise, dass der zugeschmolzne Schenkel etwa 20 cm lang wird und beide Schenkel nach oben in einem Winkel von etwa 40° auseinandergehen. Das offne Ende des Rohres wird mit einem Wattebäuschchen

---

*) Ber. d. deutschen chem. Gesellsch. 1883. Bd. 16. 2254.

**) Das Bleipapier wurde hergestellt durch Tränkung von Fliesspapier mit einer Lösung von basisch essigsaurem Blei oder alkalischer Bleilösung und nachheriger Trocknung in reiner Luft.

versehen, das Rohr mit der Nährlösung gefüllt und in Dampf sterilisiert, wobei man, um ein Auskochen der Flüssigkeit zu vermeiden, den langen Schenkel des Röhrchens horizontal legt. Mit einer Platinöse wird geimpft (Z. 12. 496).

Auch die Gärungskölbchen, wie sie zur Zuckerbestimmung im Harn im Gebrauch sind, lassen sich verwenden, nur in einer etwas abgeänderten Form nach Th. Smith so, dass der Winkel zwischen den beiden Schenkeln nicht zu spitz und der offene Schenkel gross genug ist, um den Inhalt des geschlossnen (Fig. 105 b) aufnehmen zu können.

Die eingefüllte Nährlösung soll nur im langen Schenkel und im Uebergangsteil stehen. Dann wird ein Wattepfropf aufgesetzt und im Dampf sterilisiert. Nach der Erhitzung wird die dabei ausgetriebene, im geschlossnen langen Schenkel oben sich sammelnde Luft durch sanfte Neigung des Kölbchens herausgelockt; dass wirklich jeglicher Sauerstoff weggegangen ist, davon kann man sich überzeugen, wenn man die Flüssigkeit mit Lakmus gefärbt hat. Während der Sterilisierung

Fig. 105.

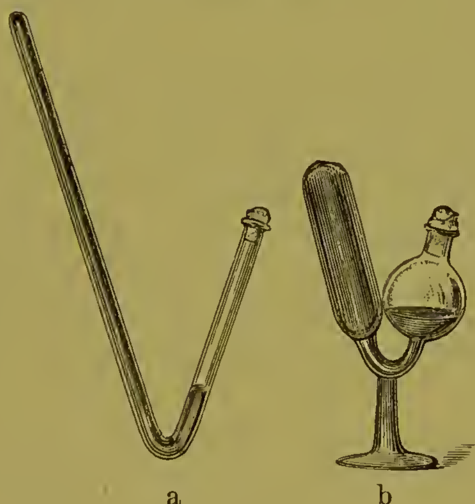


Fig. 106.



verliert sie allmählich die Farbe. Nach einigen Tagen erst kehrt sie in der Flüssigkeit im offnen Schenkel zurück, geht langsam nach unten in den Uebergangsteil, aber nicht, selbst nach langem Stehen, in den geschlossnen Schenkel. Strenge Aërobier wachsen nicht im letztern; wohl aber fakultative Anaërobier, namentlich bewegliche. Die gebildeten Gase sammeln sich in der Kuppe, aber nur ein Teil, ein andrer entweicht durch die Oeffnung; doch scheint dieser Verlust die verschiednen Gase zugleich, also nur die absolute, nicht die relative Menge zu treffen. Smith, der über das Verhalten der strengen Anaërobier keine Versuche anstellte, machte eine Analyse der (von den Schweinepestbakterien gebildeten) Gase durch Schütteln mit Kalkmilch (zum Nachweis der Kohlensäure) und Annäherung an eine Flamme, wobei als Zeichen vorhandnen Wasserstoffs ein leichter Schall entstand (C. 7. 502).

Zum Zwecke der Sammlung und Analyse grösserer Mengen der von den Bakterien, namentlich Anaërobiern, gebildeten Gase, lässt sich ein Apparat verwenden, der nach Botkin (Z. 11. 432) angeordnet, aus den vorhandnen Gebrauchsgegenständen unschwer zusammengestellt werden kann.

Ein Literkolben aus starkem Glase (Fig. 106), oben mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen versehen, wird mit der Nähr-

lösung gefüllt. Durch die eine Bohrung des Pfropfens führt ein langer, bis fast auf den Boden reichender Scheidetrichter, dessen obere Oeffnung mit Watte zugestopft ist. Durch die andre geht ein gebognes Glasrohr, das in einem mit Quetschhahn B versehenen Kautschukröhrchen endigt. Der ganze Apparat, gefüllt mit der Gärflüssigkeit wird bei offnen Hähnen A und B im Dampf sterilisiert, danach werden sogleich beide Hähne geschlossen; der Inhalt des Gefässes ist nun so gut wie luftleer. Die Besäung nach der Abkühlung geschieht durch den Scheidetrichter unter vorsichtiger Oeffnung des Hahnes A; sind einige Tropfen der geimpften Flüssigkeit eingeflossen, so wird der Hahn wieder zugedreht. Wird nun bei günstiger Temperatur gezüchtet, so bildet sich bald ein Ueberdruck im Kolben und die gebildeten Gase können durch B nach Belieben abgelassen werden. Um sie aufzufangen, stellt man ein in Quecksilber eintauchendes und damit gefülltes Eudiometer in die Nähe und leitet den Gummischlauch von B unter dieses Rohr.

Das Prinzip der Botkinschen Anordnung ist dasselbe, wie bei den von Pasteur früher angegebnen Kolben, die aber eigens gefertigt werden müssen. Sie finden sich in Hueppes „Methoden" abgebildet und beschrieben. Aehnlichen Bestimmungen dienen die von A. Koch verwendeten Verschlüsse an Kolben mit und ohne Lüftungseinrichtungen (C. 13. 252).

Die Erforschung der Art der gebildeten Gase vollzieht sich nach den in der Chemie gebräuchlichen gasanalytischen Methoden. Ausser den verschiednen Chemikalien und sonstigen Laboratoriumeinrichtungen und dem genannten Eudiometerrohr ist dazu ein Barometer nötig, das zur Vervollständigung der Ausrüstung überhaupt notwendig ist. Bei Anschaffung rate ich zu einem Heberbarometer von R. Fuess (Berlin SW. alte Jakobstrasse 108) und zwar Nr. c des Preisverzeichnisses über Instrumente für meteorologische Stationen 2. und 3. Ordnung.

Mittels eines eignen Apparates, der die sofortige Reduktion der Gasprobe auf 0° und 760 mm Quecksilberdruck, überhaupt genauere Untersuchungen mit verhältnismässig geringem Zeitaufwand gestattet, ist neuerdings Hesse die Feststellung gelungen, dass Aërobier bei ihrem Wachstum im wesentlichen Sauerstoff aus der Luft aufnehmen und dementsprechend Kohlensäure an sie abgeben, also genau so atmen, wie die Tierwelt. Anaërobier bilden ebenfalls Kohlensäure, den Sauerstoff spalten sie aus dem Nährboden ab.

Die Schilderung des Verfahrens ist leider nicht derartig, dass ein Nacharbeiten ohne weiteres ermöglicht ist. Auch erschien der Apparat dem Autor selbst noch verbesserungsfähig hinsichtlich eines gasdichten Abschlusses, der einer zweiten Mitteilung zufolge durch Quecksilberabschlüsse an den Hähnen erreicht wurde, ohne dass die Einrichtung genauer beschrieben wäre. Darum, und weil sich mir bis jetzt noch keine Gelegenheit bot, damit zu arbeiten, verzichte ich hier, wo es mir auf eine Beschreibung guter Methoden und Apparate bis ins einzelne ankommt, auf eine Darstellung und verweise Interessenten auf das Original (Z. 15. 17 und 183). Nur der offenbar grossen Vorteile, die sich erreichen lassen, will ich gedenken, wie sie Hesse aufzählt:

1. Die Methode sagt uns, ob und in welchem Umfange ein Wachstum der Bakterien stattfindet.
2. Sie gibt uns daher den besten Anhalt zur Beurteilung der Versuchsbedingungen, insbesondre der Zuträglichkeit der Zusammensetzung und Reaktion der Nährboden, sowie der Züchtungstemperatur. Sie setzt uns

daher auch in den Stand, nach unsern Wünschen und Bedürfnissen die Nährboden auszuwählen und herzustellen und die Temperaturen zu regeln.
3. Sie gibt uns einen Massstab für den Lebenslauf einer Kultur bis zum Tode oder bis zur abgeschlossnen Sporenbildung.
4. Sie erlaubt uns zu berechnen, wie viel in einer bestimmten Zeit, eventuell von der Impfung an bis zum Eingehen der Kultur im ganzen Sauerstoff aufgenommen und Kohlensäure abgegeben und wie viel Sauerstoff zurückgehalten wurde.
5. Sie lässt uns jede absichtliche oder zufällige Störung erkennen, die das Wachstum der Bakterien irgend erheblich beeinflusst.
6. Sie gestattet einen Rückschluss auf das Alter der Kultur und gibt einen Anhalt für ihre Reinheit.
7. Sie bietet ein wertvolles Mittel zur Unterscheidung einander ähnlicher Bakterien.

Zum Studium der **Farbstoffbildung**, deren Erscheinungen nach der Beobachtung sowohl im auffallenden, wie im durchfallenden Lichte zu beurteilen sind, müssten die Farbstoffe getrennt von den Bakterien rein dargestellt werden. Es hat sich aber gezeigt, dass das mit zu den schwierigsten Aufgaben gehört; bei dem ziemlich untergeordneten praktischen Werte, den ihre Lösung besitzt, ist man zwar an sie herangetreten, hat sie aber nach den ersten Versuchen meist wieder aufgegeben. Die Bakterien selbst sind mit verschwindend wenigen Ausnahmen farblos, die Farben entstehen erst durch Bildung neuer Körper aus dem Nährboden unter dem Einflusse ihrer Lebensthätigkeit, am besten, wenn die Züchtung unter Lichtabschluss erfolgt. Die Bakterien der roten Milch sind besonders empfindlich gegen Licht (Grotenfeld, F. 7. 41). Man kann versuchen, die Farbkörper mit kaltem oder heissem Wasser, verdünntem oder absolutem Alkohol, Amylalkohol, Chloroform, Aether, Petroleumäther, Benzol, Schwefelkohlenstoff u. a. in Lösung zu bringen und sie aus den Lösungen krystallinisch zu fällen durch Goldchlorid, Platinchlorid, Kaliumquecksilberjodid, Tannin, Sublimat, Phosphormolybdänsäure, Reagentien, die Gessard mit Erfolg zur Gewinnung des Pyocyaninfarbstoffes anwandte. Im allgemeinen hat man aber, wie gesagt, nicht viel Glück damit gehabt.

Zusatz von Säuren oder Alkalien bleibt entweder ohne Einfluss, oder der Farbstoff verschwindet, oder er schlägt in einen andern um. Wird z. B. blaue Milch mit fixen Alkalien versetzt, so wird sie rosa; Säure stellt die ursprüngliche Farbe wieder her (Nelsen; Heim K.A. 5. 520). Ammoniak aber verändert den Farbstoff nicht, im Gegenteil es ist, wie Scholl (F. 7. 807) bewies, für seine Entstehung notwendig. Nach Hueppe und Scholl ist diese Farbe ein Salz, dessen Base Ammoniak sein und dessen Säure der Fettreihe angehören muss. Die wichtige Rolle, die das Ammoniak in ähnlichen Fällen, so bei dem im Wasser so häufig vorkommenden, verflüssigenden, fluoreszierenden Bazillus spielt, hat Hoffa (M. 91. 247) sehr hübsch gezeigt; er dampfte die mittels Filtration durch Thonzellen keimfrei gemachte Bouillonkultur im Vakuum bei 35° vorsichtig ein und wies zunächst Ammoniak im Destillat nach; aus dem Rückstand gelang es ihm alsdann, durch wiederholte Fällung mit der zehnfachen Menge absoluten Alkohols ein gelbes Pulver zu gewinnen; dieses wurde dem Brieger-schen Reinigungsverfahren unterzogen: es wurde in verdünntem Alkohol gelöst und mit alkoholischer Sublimatlösung versetzt, der Niederschlag mit Wasser angerührt, das Quecksilber mit Schwefelwasserstoff ent-

fernt, filtriert und aus dem Filtrat das Albumin — denn ein Eiweisskörper schien es zu sein — wieder gefällt. Durch mehrfache Auflösung in Wasser und Wiederfällung mit absolutem Alkohol blieb schliesslich ein weisslich graues Pulver. Löste man eine Spur davon in Wasser und setzte zu der Lösung irgend ein Alkali, Ammoniak, Natron- oder Kalilauge, so trat augenblicklich die prachtvollste grüne Fluorescenz genau in derselben Weise, wie in den Reinkulturen in die Erscheinung.

Der **Nachweis von reduzierenden und ähnlichen Eigenschaften** gelingt durch Zugabe von leicht reduzierbaren Farbstoffen, die dabei ein Leukoprodukt geben, eine Küpe, die sich allerdings unter dem Einfluss der atmosphärischen Luft wieder oxydiert. Wir wissen beispielsweise, dass Indigblau bei Gegenwart von Alkalien durch Reduktionsmittel, wie Zucker u. dgl. in Indigweiss (Indigoküpe) verwandelt wird. Diese Thatsache verwertete zuerst Spina (C. 2. 71) und etwa gleichzeitig mit ihm Cahen (Z. 2. 387). Nach Zusatz des wasserlöslichen indigoschwefelsauren Natrons zum eiweiss- oder peptonhaltigen Nährboden wird, wenn die eingesäten Bakterien reduzierende Eigenschaften besitzen, die blaue Farbe mit zunehmender Entwicklung der Keime verschwinden; im festen Nährsubstrat bleibt die farbstofffreie Zone soweit sichtbar, als das Auswachsen im Impfstich erfolgte, ohne dass der Sauerstoff der Luft Zutritt hatte; im flüssigen lässt sich durch Umschütteln die blaue Farbe wieder herstellen. Da das aber auch ohne Umschütteln stattfinden kann, empfiehlt es sich, für solche Versuche möglichst die festen Nährboden zu nehmen.

Wegen ihrer Sauerstoff bindenden Kraft eignen sich derartige Verbindungen, farbige und farblose, ganz besonders als Zusatzmittel zu den Nährboden für die Züchtung strenger Anaërobier, wozu wir uns, wie früher (S. 83) dargelegt, des indigschwefelsauren, ameisensauren Natrons und andrer ähnlich wirkender, für die Bakterien möglichst unschädlicher Stoffe nach Kitasato und Weyl mit Vorteil bedienen.

Auch aus der Lakmusfarbe spaltet nach den Ermittlungen Cahens eine Anzahl von Bakterien ein Leukoprodukt ab, das sich wie eine Küpe verhält, so dass also Lakmus nicht bloss zur Erkennung der Reaktion der Nährmedien, sondern auch als Anzeiger für die Sauerstoffentziehung verwendbar ist.

In demselben Sinne lässt sich auch Methylenblau benützen, allerdings nicht mit dem gleich guten Erfolg, wie Indigo, weil es weit weniger unschädlich für die Bakterien ist und selbst entwicklungshemmend wirkt.

Nichtsdestoweniger gelingt es bei vorsichtiger Zugabe dieses und anderer Anilinfarbstoffe, sie zur Erkennung gewisser Lebensäusserungen der Kleinwesen dienstbar zu machen, namentlich solcher, die gegen derartige Entwicklungshemmung nicht sehr empfindlich sind. So stellte Rozsahegyi (C. 2. 418) durch Züchtung in mit Anilinfarben (oder Tinctura cermesina) gefärbter Nährgelatine teils in Veränderung des Wachstums, teils in Entfärbung gelegne Artenunterschiede fest und fand die Methode geeignet, die das Bakterienwachstum begleitenden chemischen Prozesse bis zu einem gewissen Grade zu veranschaulichen. Nöggerath (C. 3. 481) sah, dass die Bakterien aus einem

den Spektralfarben entsprechenden Gemische von Anilinfarben, sich ihre Farbe nicht nur aussuchen, sondern auch zu ihrer Färbung Modifikationen und Töne der einzelnen Farben sich wählen, die ursprünglich den einzelnen gebrauchten Farbennuancen nicht entsprechen, und gab folgende Vorschrift.

Zuerst bereitet man sich eine konzentrierte Lösung der zu benützenden Farben in destilliertem Wasser. Davon mischt man von:

Alkalischem Fuchsin . . .	5 ccm
Chrysoidin	4 „
Methylgrün	1 „
Methylenblau	2 „
Gentianaviolett	4 „

Da bei der Mischung infolge des intensiven, je nach der Farbe verschiednen Anklebevermögens der Farbstoffe am Rande der Gefässe ein ungleichmässiges Mischungsverhältnis entstehen würde, so ist es nötig, gewisse Vorsicht zu gebrauchen. Man nimmt abgemessne 200 ccm destillierten Wassers, einen 25 ccm fassenden Hohlcylinder und ein grösseres Mischgefäss (Schale oder Flasche): Von den 200 ccm Wassers werden zuerst 20 ccm in den Hohlcylinder geschüttet, darauf 5 ccm der konzentrierten wässrigen Fuchsinlösung, dann wird die Mischung in die Flasche gegossen und der Hohlcylinder mit einigen Kubikzentimetern der 200 ccm Wasser ausgespült. In dieser Weise wird fortgefahren, bis jeder Farbstoff einzeln in 25 ccm Wasser gelöst ist und alle Portionen vereinigt sind.

Nun erst folgt die Zugabe zum Nährboden. Zu etwa 10 ccm der in einem Reagensglas verflüssigten Gelatine werden 6—8 Tropfen der Flüssigkeit (bis zur beginnenden Undurchsichtigkeit) eingegeben, dann wird die Mischung 2—3mal bis zum Erzittern des Gläschens erhitzt und also heiss in sterilisierte kleine Porzellantellerchen oder auf Glasplatten mit weisser Unterlage gegossen, strichförmig geimpft und in der sonst üblichen Weise behandelt. In den nächsten Tagen erscheint das entlang des Striches sich entwickelnde Kleinwesen in seiner ihm eigentümlichen Farbe; zu beiden Seiten bildet sich eine meist grünlich gefärbte, durchscheinende Schicht in der Gelatine aus, die nach rechts und links in indifferente Farben übergeht. Sollte die Mischfarbe, auf Filtrierpapier geträufelt, nicht ganz indifferent grau oder schwarz sein, so muss mit Chrysoidin oder, wenn zu gelb, mit Violett nachgeholfen werden. Die Farbe verändert sich in den nächsten Tagen so, dass das Rot zu stark hervortritt. Man muss daher entweder immer frisch bereiten, oder mit Grün oder Blau verbessern, oder länger stehen lassen, bis sich die Färbung von selbst korrigiert. Tritt Grünfärbung ein, so muss Rot zugesetzt werden.

Nachweis der Bildung von Säure und Alkali.

So wenig tief wir mit diesem Nachweise in die Erkennung der Lebensäusserungen der Bakterien einzudringen vermögen, so ist er doch, von nicht zu unterschätzender Wichtigkeit; denn er setzt uns in den Stand, von einem neuen Gesichtspunkt aus zwei Gruppen zu unterscheiden, vorausgesetzt, dass er mit der genügenden Schärfe einwand-

frei geliefert werden kann. Wir finden nun unter den wenigen Forschern, die sich eingehender damit befasst haben, Petruschky und Sommaruga, bedeutende Widersprüche, die sich aus den verschiednen zur Züchtung verwendeten Nährlösungen erklären; jener benützte zuckerhaltige, dieser zuckerfreie Nährmittel. Es ist ohne weiteres einleuchtend, dass Gärungserreger in Zuckerlösungen Säure bilden werden. Auch in der Grösse der Säure- und Alkalierzeugung können sich je nach der Versuchsanordnung ganz verschiedne Endergebnisse herausstellen; haben wir z. B. zur Erkennung einen neutralen Nährboden gewählt für Bakterien, die zu einer guten und reichlichen Entwicklung deutlich alkalische Reaktion verlangen, so wird sich ihr Wachstum darauf weniger üppig vollziehen, und demgemäss auch die Bildung von Stoffwechselerzeugnissen eine verminderte sein.

Diese Schwierigkeiten sind jedoch nicht die einzigen. Ich erwähne hier nur noch den Umstand, dass wir bislang noch keinen Anzeiger besitzen, der die Mengenbestimmung von Säure und Alkali in unsern fleischsauren, gelb gefärbten Nährlösungen mit ihrem Gehalte an Eiweiss, Pepton und Phosphaten mit der wünschenswerten Raschheit und Schärfe zulässt. Ganz ungeeignet ist dazu Phenolphthaleïn, denn es zeigt in derartigen Lösungen erst einen Gehalt an Alkali an, der weit über der Neutralitätsgrenze, ja sogar schon ausserhalb der für eine Reihe von Bakterien zuträglichsten Alkalescenz gelegen ist (S. 71). Ebensowenig ist Lakmustinktur dazu zu brauchen, am geeignetsten hat sich noch die Tüpfelung auf Lakmuspapier und demnächst die Rosolsäure erwiesen. Beide werden am besten gleichzeitig, einander ergänzend, herangezogen, die Rosolsäure als frisch und heiss bereitete wässrige Lösung: man nimmt einige Körnchen des roten Pulvers, übergiesst sie mit wenigen Kubikcentimetern neutralen destillierten Wassers in einem Reagensglase und erhitzt unter Schütteln zum Kochen. Rosolsäure färbt sich bekanntlich mit Alkalien rot; das erste Eintreten der alkalischen Reaktion ist nur von einer schwachen Rotfärbung begleitet, eine solche aber ist in gelben oder gar dunkler gefärbten Flüssigkeiten kaum oder überhaupt nicht zu erkennen; zum mindesten muss man immer eine Kontrollprobe daneben haben. Meist aber ist es erforderlich, mit verdünnten Nährlösungen zu arbeiten, indem man ums 5—10fache mit neutralem destilliertem Wasser vermischt. Je grösser in einer solchen zur Titrierung bestimmten Probe die Verdünnung, desto mehr wächst jeder allenfalls gemachte Fehler, ums 100fache, wenn man von den mit 10 ccm erhaltnen Werten aufs Liter berechnet.

Man vergesse nicht, die Titrierung stets in erwärmten Flüssigkeiten vorzunehmen!

Wenden wir uns nun zur Ausführung solcher Untersuchungen zunächst mit Kulturen in oder auf Fleischwasserpeptongelatine oder -Agar.

Dem Vorgange von Sommaruga (Z. 12. 275) folgend, neutralisieren wir erst den gewünschten Nährboden genau mittels 4%oiger (Normal-) Natronlauge, mit Hilfe der Tüpfelung auf empfindlichem Lakmuspapier und alkalisieren ihn dann soweit, dass das günstigste Verhältnis für die einzuimpfende Bakterienart entsteht. Um das Gesamtvolum nicht allzusehr zu vermehren, bedienen wir uns in diesem Falle lieber der 10fach normalen (40%oigen) Natronlauge.

Nach Erhitzung, Filtration und Einfüllung zu genau je 10 ccm in die Reagensröhrchen (mittels Bürette) folgt die endliche Sterilisierung. Dabei ist wohl darauf zu achten, dass sich die Menge des abgefüllten Nährbodens nicht ändert! Wiederholt habe ich bei der Herausnahme der Röhrchen aus dem sonst so vorzüglichen Dampftopf amerikanischen Musters (Budenberg S. 55) die Gesamtmenge kleiner als 10 ccm gefunden; es bildet sich nach dem Ablöschen der Heizflamme infolge der Dampfverdichtung im Kessel ein Vakuum, so dass aus dem Nährboden Wasser verdunsten muss; die Reagensgläser müssen daher sogleich nach der Sterilisation, am besten ohne dass die Flamme wegkommt, herausgenommen werden. Umgekehrt kann man bei der Sterilisierung im Autoklaven mit gespanntem Dampf das Gegenteil erfahren. Wenn die Heizung aufhört, verdichtet sich der Dampf, das Wasser im Kessel wallt heftig auf, die Wattepfropfen werden benässt und, wenn nun die Gläser herausgenommen werden, wird das in den Wattepfropfen enthaltne Wasser stürmisch von dem sich verdichtenden Nährboden angesaugt; auch hier darf die Flamme nicht eher gelöscht werden, bis der Deckel vom Topfe genommen ist. In jedem Falle versäume man vor der Sterilisation nicht, an einigen Röhrchen den Flüssigkeitsstand zu bezeichnen, um jede Aenderung wahrnehmen zu können.

Sind wir glücklich an diesen Klippen vorbeigekommen, so überzeugen wir uns nochmals von dem Alkaleszenzgrade des Nährbodens. Wir nehmen 2 oder 3 Röhrchen, und giessen ihren Inhalt in ebensoviele Kölbchen. Um auch die letzte Spur aus dem Röhrchen dort hinein zu bringen, nehmen wir die zur Verdünnung bereit gestellten 90 ccm heissen destillierten Wassers und spülen mit kleinen Portionen davon das Röhrchen aus, ehe wir es zum Nährsubstrat ins Kölbchen giessen. Die verdünnte Lösung wird mit einigen Tropfen heisser wässriger Rosolsäure versetzt und titriert. Dabei gilt die Regel, zunächst im Ueberschuss ein genau bekanntes Volum $^1/_{10}$ N.-Schwefelsäure zuzufügen und mit $^1/_{10}$ N.-Lauge zurückzutitrieren, weil das Hervortreten der Rotfärbung nach Alkalizugabe viel leichter zu erkennen ist, als umgekehrt ihr Verschwinden bei Säurezusatz. Nun werden die Röhrchen schräg zur Erstarrung hingelegt und noch 4—5 Wochen bei Zimmerwärme aufbewahrt, um dem Sauerstoff der Luft möglichst Zutritt zu verschaffen. Nach dieser Zeit nimmt man wiederum mit einigen Proberöhrchen die gleiche Titration vor, um sicher zu sein, dass sich keine wesentlichen Aenderungen geltend gemacht haben. Die dabei erhaltnen Ergebnisse sind genau notiert aufzubewahren. Dann folgt Einsaat, Züchtung und Feststellung des Titers nach geschehener Entwicklung der Bakterien.

Sommaruga konnte in seinen Versuchen bei den meisten, ja fast bei allen geprüften Bakterienarten Alkalibildung in grösserem oder geringerem Masse wahrnehmen (Versuche, die Bakterien auf einem von vorneherein mit Rosolsäure versetzten Nährboden zu züchten, gaben nicht die besten Ergebnisse, wegen schädigender Wirkungen der Säure).

Für vergleichende Untersuchungen ist das Verfahren von Sommaruga darum weniger geeignet, als das ältere von Petruschky, weil hier die Bakterien in einer eiweissfreien und zuckerhaltigen

Flüssigkeit gezüchtet werden, wodurch je nach dem Bestehen oder Nichtvorhandensein von Gärungsvermögen grundsätzliche und stufenweise Verschiedenheiten der einzelnen Bakterienarten beobachtet werden können. Da dieses Gärungsvermögen innerhalb gewisser Versuchsfehlergrenzen gleich bleibt, so ist man in die Lage versetzt, es zur Unterscheidung gewisser, schwer auseinander zu haltender Arten (z. B. der Typhusbazillen von ähnlich wachsenden) zu verwerten.

Als Nährmaterial benützte Petruschky das aus frischer Milch nach Fällung des Kaseïns und Entfernung des Fettes gewonnene Milchserum (Molken), versetzte es mit der von Buchner in diesem Sinne verwendeten und als unschädlich für das Bakterienwachstum befundnen Lakmustinktur und säte in die sterilisierte Flüssigkeit die Bakterien ein, die nun je nach ihrem Alkali- oder Säurebildungs- (Gärungs-) vermögen die Farbe des Nährbodens nach der einen oder der andern Richtung hin umstimmten. Die Bereitung der Lakmusmolke geschieht also:

Ganz frische Milch wird nach gelinder Erwärmung mit einer Menge stark verdünnter Salzsäure versetzt, die für die Ausfällung des gesamten Kaseïns genügt. Vom Kaseïnniederschlag wird abfiltriert. Erweist sich die Reaktion des Filtrates als stark sauer, so ist ein Teil des Kaseïns als Acidalbuminat mit in Lösung gegangen. Es wird nun mit verdünnter Natronlauge oder Sodalösung genau neutralisiert, aber nicht bis zur eintretenden Alkaleszenz. Darauf wird die Flüssigkeit 1—2 Stunden im Dampf gehalten, wobei der Rest des Kaseïns ausfällt. Dann wird die Flüssigkeit bis zu völliger Klarheit filtriert. Hatte man die Molke alkalisch gemacht, so wird sie beim Kochen dunkelgelb bis braun, und ist für die Erkennung der Farben nicht mehr verwendbar. Nicht selten bleibt sie trüb. Dann lässt man sie in sterilem Zustande ruhig stehen, bis der sehr feine Niederschlag zu Boden gesunken ist, und hebert dann die überstehende klare Flüssigkeit vorsichtig ab. Die Molke muss schliesslich ganz wasserhell sein, einen leichten Stich ins Gelbgrünliche zeigen und sich genau neutral erweisen. (Es beeinträchtigt die Güte des Nährbodens nicht, scheint sogar günstig zu wirken, wenn man die Milch von vorneherein mit der gleichen Menge destillierten Wassers verdünnt.)

Dann gibt man dem Ganzen einen Zusatz von 5 ccm Lakmustinktur (Bereitung S. 69) auf je 100 ccm. Die so erhaltne Nährflüssigkeit darf empfindliches Lakmuspapier nicht verändern und muss im Reagensglase bei völliger Klarheit einen schönen neutralvioletten — im Sinne der Optik purpurnen — Farbenton zeigen.

Die Gewinnung einer solchen Flüssigkeit ist nicht ganz einfach und missglückt mitunter. Hat man ein schönes Präparat fertig gebracht, so ist mit der Einfüllung in die Reagensgläser die Reihe störender Zufälligkeiten noch nicht beendigt. So begegnete es mir, dass nach der Sterilisierung der abgefüllten Proben ein Teil blau wurde, ein anderer rot, was seinen Grund in Verschiedenheit der Gläser hatte, denen von der Fabrikation her noch Mängel anhafteten. Solche Proben müssen ausgeschaltet werden.

Die Abfüllung geschieht in Mengen von 5 oder besser 10 ccm. Nach der Impfung mit Bakterien, deren Reinheit zuvor durch das Plattenverfahren geprüft ist, stellt man die Proben für 10 Tage in den

Brutschrank und führt dann die Titrierung gleich im Probegläschen aus. Dabei kommen vorteilhaft Büretten (oder in $^{1}/_{10}$ ccm geteilte Pipetten) zur Verwendung, die genau gleich grosse Tropfen geben, deren eine bestimmte Zahl (18—22, am besten 20) auf 1 ccm gehen. Zum Farbenvergleich wird ein nicht geimpftes Proberöhrchen genommen.

Bei der Prüfung mit Lakmusmolke werden vornehmlich solche Mikroorganismen als Säurebildner erkannt, die den Milchzucker zu vergären vermögen. Es gibt jedoch Bakterienarten, wie Smith zeigte, die Milchzucker nicht, wohl aber Traubenzucker vergären, so rufen die Schweinecholerabakterien in Peptonbouillon mit Traubenzuckerzusatz Säuerung hervor, nicht aber in Milch (C. 8. 389).

P. Kaufmann teilte (C. 10. 65) mit, dass es mittels Jequiritylösung, für sich als Nährboden verwendet, zwar weniger vollkommen, aber in einfacherer Weise gelinge, Säurebildner von Alkalibildnern zu unterscheiden, indem nämlich, wenn überhaupt eine nennenswerte Entwicklung zustande kommt, die hellgelbe Lösung durch Säure entfärbt, durch Alkali grün wird. Sogar zu der schwierigen Unterscheidung des Typhusbazillus vom Bact. coli liess sich die Jequiritylösung benützen, weil sie durch dieses entfärbt wurde, während der Typhusbazillus Grünfärbung bedingte. Ihre Herstellung ist einfach:

10 g Jequiritysamen (von Merck-Darmstadt) werden durch Zerstampfung im Mörser entschält und mit 100 ccm Wasser 2 Stunden im Dampftopf gehalten, dann abkühlen lassen; vom gebildeten Niederschlage wird abfiltriert.

Eine eigne Methode, die zwar nicht die quantitative Bestimmung der Bildung von Säure und Alkali zulässt, aber für eine oberflächliche Orientierung geeignet ist und gute Demonstrationsobjekte liefert, ist von Beyerinck (C. 9. 781) erdacht worden. Einem festen, durchsichtigen, zuckerhaltigen, also vergärungsfähigen Nährboden wird die Durchsichtigkeit durch Zusatz eines neutralen, für die Bakterien unschädlichen kohlensauren Salzes genommen. Beginnt nach der Einsaat mit dem Wachstum nicht verflüssigender Bakterien ihre Säureerzeugung, so wird das Salz gelöst und der Nährboden, soweit die Wirkung der Ansiedlung reicht, wieder durchsichtig. Am besten lässt sich dieser Vorgang bei der Verwendung des Plattenverfahrens studieren.

Als Nährboden diente bei den gärungstechnischen Arbeiten des Autors eine Hefewasser-Glukosegelatine, bereitet aus:

Hefeabkochung von 20 g Hefe in 100 ccm Leitungswasser,
Gelatine 8 g (oder Agar 0,75 g),
Glukose 5—10 g (oder eine andre Zuckerart, wie Milch-, Rohrzucker, Maltose, Lävulose, Mannit u. s. w.).

Die Mischung wird sorgfältig neutralisiert und filtriert und erhält vor dem Gebrauch den Zusatz einiger Tropfen einer Aufschwemmung von reiner Kreide in Wasser bis zur gänzlichen Trübung, selbst in einer Schicht, die etwa 1 mm dick ist. Dann wird die Plattenaussaat vorgenommen, am geeignetsten derart, dass man die Nährlösung erst in einer Schale erstarren lässt, und dann das in wenig sterilem Wasser aufgeschwemmte Impfmaterial über die Oberfläche giesst; die dünne Wasserschichte wird vom Nährboden bald eingesaugt und die Keime bleiben, jeder an seiner Stelle liegen.

Statt Kreide nahm Beyerinck auch Karbonate von Magnesium, Barium, Strontium, Mangan, Zink u. dgl., von denen sich besonders das Zink zur Erkennung gewisser Formen eignete. Bei strichförmiger Impfung entstehen auf der Oberfläche in der Umgebung der Einsaat elliptische Diffusionsfiguren.

Die Alkalibildung gleichzeitig eingesäter Keime lässt sich nur indirekt erkennen, insofern als eine neben einer säurebildenden Art aufschiessende Kolonie die regelmässigen Grenzen stört, soweit das Wachstum reicht; sät man den Alkalibildner allein aus und zieht nachträglich rechtlinige Impfstriche mit Säurebildnern auf der Oberfläche, so machen sich infolge der Neutralisierung der Säure durch das Alkali gewisse Formänderungen im durchscheinenden Diffusionsfeld der Säurebildner geltend.

Anhangsweise sei hier noch des Vorgehens von Nencki gedacht, um zwei ganz ähnliche Bakterienarten, die beide Kohlehydrate vergärten, schliesslich noch durch Zuhilfenahme des Polarisationsapparates voneinander zu unterscheiden; dabei ergab sich, dass die eine Art (Bact. coli) Rechtsmilchsäure, die andre optisch inaktive Linksmilchsäure gebildet hatte (C. 9. 305).

Nachweis der Bildung von Indol und salpetriger Säure.

Unter den mannigfachen, als Ausfluss der Lebensthätigkeit der Bakterien anzusehenden Stoffen beanspruchen gerade diese beiden unsre Aufmerksamkeit, weil sie gleichzeitig nur von einer beschränkten Anzahl von Bakterien, und zwar Vibrionen gebildet werden, und zur Erkennung der Choleravibrionen von Wichtigkeit sind. Denn von den im Darmkanal des Menschen bis jetzt gefundnen Kleinwesen sind die Cholerabakterien die einzigen, denen diese Eigenschaft zukommt. Indol allein ist ein sehr häufiges Produkt bakterieller Umsetzungen.

Der Nachweis des gleichzeitigen Vorhandenseins von Indol und salpetriger Säure in Reinkulturen gelingt durch Einträuflung von konzentrierter, reinster (nitritfreier) Schwefelsäure. Es tritt danach eine Rotfärbung in die Erscheinung.

Auch andre Säuren eignen sich, so Salzsäure, Weinsäure, Oxalsäure. Letztern beiden gab Liebreich (B. 93. 1102) den Vorzug wegen des Bestehens der Möglichkeit, dass etwa vorhandne Nitrate durch Zugabe der konzentrierten Schwefelsäure bei Gegenwart von Indol zu Nitriten reduziert werden, also eine Nitrosoindolreaktion zustande kommen kann, wo ursprünglich gar keine Nitrite zugegen waren.

In Cholerakulturen sah zuerst Poehl und später Bujwid die Rotfärbung nach Salzsäureeingabe auftreten, Dunham rief sie zuerst durch Unterschichtung von Schwefelsäure hervor, stellte die Notwendigkeit der Gegenwart von Peptonen in den Nährmitteln fest und empfahl die noch jetzt als geeignetst geltende wässrige Peptonlösung (1 % mit 0,5 % Kochsalz) als Züchtungsmittel für Choleravibrionen zur Erzielung einer möglichst kräftigen Reaktion. Während man diese anfänglich für etwas den Cholerabakterien Eigentümliches ansah und darum den entstandnen Farbstoff als „Cholerarot“ bezeichnete, erwies sie später

E. Salkowski (V. 110. 366) als gleich der bereits von A. Baeyers und Nenckis Untersuchungen her bekannten Indolreaktion mit salpetriger Säure.

Die in den Kulturen der Cholera- und ihnen verwandter Bakterien neben Indol gebildete salpetrige Säure verdankt vielleicht — genaues wissen wir darüber nicht — ihre Entstehung den salpetersauren Salzen, wie sie in unsern Nährmitteln als Verunreinigungen des Peptons oder des Kochsalzes enthalten sind. Dass die Reaktion mit Reinzüchtungen von Choleravibrionen mitunter nicht gelingt, mag vielleicht an der Beschaffenheit des verwendeten Peptons liegen. In der That eignen sich nicht alle Peptonsorten gleich gut, am besten ist das Wittesche. Gorini suchte das etwaige Ausbleiben der Erscheinung in einem Zuckergehalt des Peptons (C. 13. 791). Schwache Aeusserungen der Reaktion lassen sich durch Ausschüttlung mit wenig Amylalkohol augenfälliger machen, der den in der Kulturflüssigkeit enthaltnen roten Farbstoff aufnimmt (Maassen). Um die Reaktion ganz sicher zu erzielen, schlug Bleisch (Z. 14. 103) vor, dem geimpften Peptonwasser 30—50 Tropfen einer 0,08%igen Kaliumnitratlösung auf je 100 ccm beizugeben.

Setzt man ein salpetrigsaures Salz den indolhaltigen Kulturen andrer Bakterien zu, so erhält man auf Einträuflung reinster Schwefelsäure eine ähnliche, aber meist schwächere Rotfärbung; jedoch muss sich der Nitritzusatz in bestimmten Grenzen halten; man nimmt nach Salkowski auf je 10 ccm Kulturflüssigkeit 1 ccm einer Lösung von Kaliumnitrit zu 0,02%. Kitasato hat eine grössere Anzahl von Bakterien in dieser Hinsicht auf Indolbildung untersucht und sie nach dem positiven und negativen Ausfall in zwei Gruppen gesichtet (Z. 7. 519); in ähnlicher Weise Petri (K. A. 6. 1).

Indolbildung für sich ohne Rücksicht auf gleichzeitig vorhandne oder nicht vorhandne salpetrige Säure kann auf verschiedne Weise nachgewiesen werden, da das Indol ein äusserst reaktionsfähiger Körper ist. Eine hübsche Farbenreaktion gibt z. B. die von Legal abgeänderte Weylsche Probe: Man fügt einer Kultur im Reagensröhrchen 5—10 Tropfen einer 5%igen Lösung von Nitroprussidnatrium und dann 1—3 Tropfen Natronlauge zu. Bei reichlichem Indolgehalt bilden sich violett-braune Wolken, bei geringerem färbt sich die Flüssigkeit nur merklich dunkler. Nach einigem Zuwarten gibt man noch 5—10 Tropfen Eisessig hinein, worauf eine Blaufärbung entsteht. Sie ist von verschiedner Stärke und Reinheit, spielt häufig etwas ins Grünliche und hält sich im allgemeinen nicht so lange, wie die rote Nitrosoreaktion.

Diese lässt sich auch mit den Dämpfen einer kochenden, Indol haltenden Lösung erzielen, wenn man einen mit Alkohol und Salzsäure befeuchteten Fichtenspan über das Gefäss hält: er wird rot.

Der Nachweis von Nitriten, wie von Nitraten lässt sich mittels Diphenylamin schon in ganz geringen Spuren in augenfälligster Weise führen. Man nimmt den Deckel eines kleinen Abdampfschälchens von Porzellan oder sonst eine weisse Platte und legt einige Kryställchen von Diphenylamin darauf. Auf diese lässt man einen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure fallen. Nebenhin bringt man

mit einem Glasstabe ein Tröpfchen der zu untersuchenden Flüssigkeit und lässt beide Tropfen zusammenfliessen: bei Gegenwart von Salpetersäure oder salpetriger Säure oder deren Salzen entsteht eine blaue Färbung (Methylenblau). Kam sie gleich nach der Aufträuflung der Schwefelsäure zum Vorschein, so ist dies — vorausgesetzt, dass die Unterlage rein war — der sicherste Beweis für eine Verunreinigung der Schwefelsäure mit Nitraten oder Nitriten.

Um salpetrige Säure oder deren Salze allein nachzuweisen, bedient man sich nach Griess des Metaphenylendiamin (Metadiamidobenzol). In verdünnter Schwefelsäure aufgelöst und der Probe zugesetzt, entsteht bei Vorhandensein von Nitriten eine Braunfärbung (Bismarckbraun). Die als Reagens dienende schwefelsaure Lösung muss vollkommen farblos sein, was sich leicht durch Behandlung mit etwas Tierkohle erreichen lässt. Die so entfärbte Lösung lässt sich in einem verschlossnen Gefäss monatelang zum Gebrauche aufbewahren, ohne dass sie dabei merklich dunkler wird.

Um Salpetersäure oder deren Salze allein aufzufinden, benützt man Brucin: Einige Kubikcentimeter der zu untersuchenden Flüssigkeit werden in einem Porzellanschälchen abgedampft, 2 Tropfen reinster Schwefelsäure, sowie ein Körnchen Brucin zugesetzt. Bei Gegenwart von Nitraten entsteht eine Rosa- bis Rotfärbung.

Nachweis von Fermenten oder Enzymen.

Unter Fermenten oder Enzymen versteht man verwickelt zusammengesetzte, organische, leicht veränderliche Stoffe, die innerhalb bestimmter Wärmegrenzen verhältnismässig grosse Mengen andrer organischer Stoffe derart umzuwandeln vermögen, dass Körper entstehen von zusammen geringerer Verbrennungswärme, als den vorher vorhandnen Stoffen zukam (Flügge, Mikroorg. S. 466). Sie lassen sich meist mit Wasser oder Glyzerin ausziehen, werden dann aus dem Auszuge mit Alkohol niedergeschlagen und der Niederschlag wieder in Wasser oder Glyzerin gelöst. Mechanisch werden sie auch durch grössere Niederschläge, die man z. B. durch Calciumsulfat in eiweisshaltigen Flüssigkeiten hervorruft, niedergerissen und lassen sich nachher durch Lösungsmittel ausziehen. Eine scharfe Trennung und Reindarstellung gelang jedoch bisher nicht.

Eine der sinnfälligsten, auf Enzymwirkung beruhenden Lebensäusserungen gewisser auf Gelatine gezüchteter Bakterien ist die Verflüssigung dieses Nährbodens, ihre Fähigkeit Eiweissstoffe zu lösen, Leim in Leimpepton überzuführen. Man hat diese Erscheinung mangels bestimmter andrer Einteilungsmöglichkeiten mit zur Gruppierung der Bakterien herangezogen und zwei grosse Klassen, schlechthin verflüssigende und nicht verflüssigende genannt, unterschieden. Aber, wie so oft bei Versuchen künstlicher Gliederungen, kommen auch hier Arten vor, die bald zur einen, bald zur andern der aufgestellten Reihen hinüberneigen. Namentlich ist es die wegen ihrer ausserordentlich wechselnden Gestalt von Hauser mit dem Namen Proteus belegte Gruppe, deren Angehörige nicht selten die auffallende Erscheinung bieten, dass in ein und demselben vollständig reinen Aus-

gangsmaterial Keime angetroffen werden, die die Gelatine fest lassen und solche, die sie binnen kürzerer oder längerer Frist erweichen oder verflüssigen. Zwar gelang es Hauser, in dem Proteus vulgaris die Reinkultur eines die Gelatine immer, in dem Proteus mirabilis und Proteus Zenkeri die Reinkultur je eines die Gelatine nicht verflüssigenden Bakteriums darzustellen. In der Folge aber begegnete Bordoni-Uffreduzzi (Z. 3. 333) einem für Menschen und Tiere pathogenen „Proteus capsulatus hominis" und Jäger (Z. 12. 525) fand als die Ursache der Weilschen Krankheit des infektiösen Ikterus den Bacillus proteus fluorescens, dessen Kolonien bald die Gelatine fest liessen, bald sie verflüssigten. Selbst bei andern, als den Proteusarten, wurde Aehnliches gesehen; so traf R. Pfeiffer bei seinen Untersuchungen über den Vibrio Metschnikoff Ansiedlungen auf der Gelatineplatte, die ein rasches Verflüssigungsvermögen besassen, im Gegensatz zu andern, bei denen sich dieses Vermögen in mehr oder weniger bedeutend vermindertem Masse geltend machte.

Die Verflüssigung beruht, wie angedeutet, darauf, dass von den Keimen ein **leimlösendes**, auch tryptisches, proteolytisches, peptonisierendes Ferment genannt, gebildet wird. Unter Buchners Leitung hat es Bitter zuerst von den Bakterien, und zwar von den Choleravibrionen getrennt durch Erwärmung der Kulturen auf 60°, eine Temperatur, bei der die Vibrionen getötet werden, das von ihnen gebildete peptonisierende Ferment aber gerade noch erhalten bleibt; denn gegen höhere Wärmegrade sind auch die Enzyme empfindlich. Die Anwendung von Wärme lässt sich umgehen, wenn man die Kultur durch Chamberlandsche Thonfilter schickt (S. 220).

Um in einer erwärmten oder filtrierten Flüssigkeit das Vorhandensein des tryptischen Enzyms festzustellen, benützt man am besten Gelatine, die vor den ehemals verwendeten Fibrinwürfeln — Stückchen gekochten Eiweisses, die in der das Ferment haltenden Flüssigkeit angenagt und aufgelöst werden — den Vorteil viel grösserer Empfindlichkeit voraus hat.

Dieses von Fermi (A. 12. 238) angegebne Verfahren ist einfach. Die dazu nötige 5—10 %ige Gelatinelösung wird mit Thymol- oder Karbolsäure (3 %) versetzt, zu etwa 10 ccm in schmale Reagensröhrchen von 8—10 mm Durchmesser gefüllt und in senkrechter Stellung erstarren lassen; zum Schutz gegen Eintrocknung werden die Proben umgekehrt in einem Glase mit etwas Wasser aufbewahrt.

Wird nun ein tryptisches Ferment — die zu prüfende Flüssigkeit muss ebenfalls mit Thymol oder Karbolsäure versetzt werden — auf eine solche Gelatine gebracht, so fängt die Gelatine an, flüssig zu werden. Um die gelöste Gelatineschicht sichtbar zu machen und abmessen zu können, kann man entweder von vorneherein Reagensgläser mit Gradteilung verwenden, oder man kennzeichnet die Höhe des obern Randes der Gelatine durch Anklebung eines Papierstreifchens im Bereiche des untern Meniskus. Um die Grenze des obern Randes der noch starren Gelatine und der Flüssigkeit stets leicht im Auge zu haben, streut man eine Spur (zuviel ist nachteilig) Tierkohle auf.

Auch quantitative Bestimmungen lassen sich mit der Gelatine ausführen. Dazu hat man Reagensgläser von genau den gleichen Durchmessern gefüllt mit Gelatine von ganz derselben Zusammensetzung nötig.

Ferner muss man wissen, wie gross der Verflüssigungsbezirk bei bestimmter Temperatur und in bestimmter Zeit (nach Tagen) wird, wenn man 5 ccm Trypsinlösung mit bestimmtem Gehalt an Trypsin nimmt; es werden Lösungen im Verhältnis von 1 : 500—1000—2000—4000 bis 8000 etc. Wasser hergestellt, je 5 ccm davon auf die Gelatine gegeben und nach 2, 3 . . . etc. Tagen (ohne das Glas zu schütteln) die Grösse des Verflüssigungsbereiches aufgeschrieben. Nimmt man nun von einer zu prüfenden Flüssigkeit 5 ccm und bewahrt genau die gleichen Bedingungen, so kann man nach der bestimmten Zeit sehen, welcher der in einer Tabelle aufgeführten Proben mit bekanntem Trypsingehalt die vorliegende Probe entspricht und so auf ihren Trypsingehalt schliessen.

Um feste Partikelchen auf proteolytische Fermente zu prüfen, legt man sie fein zerschnitten erst in Karbolsäure- oder Sublimatlösung, nach 24 Stunden werden sie in die verflüssigte Thymol- oder Karbolgelatine übertragen, gut gemischt und mit ihr auf eine Glasplatte ähnlich wie zu Kulturzwecken ausgegossen. Enthielten sie auch nur eine Spur des fraglichen Enzyms, so wird sich in der erstarrten Gelatine nach einiger Zeit ein Verflüssigungskreis in der Umgebung der Stückchen bemerkbar machen.

Mittels dieses Plattenverfahrens prüfte Hankin auch (keimfreie) Flüssigkeiten auf das Vorhandensein eines peptonisierenden Fermentes; nur dürfen sie nicht vor dem Ausgiessen mit der Gelatine vermischt sein, sondern es werden nach der Erstarrung einer 5%igen, mit Thymolzusatz versehenen Gelatine auf der Platte mittels einer kleinen Pipette gleichmässig umfangreiche Tröpfchen des zu untersuchenden Materials nebeneinander aufgetragen. Wie bei Fermi kommen solche Platten in eine feuchte Kammer, aber sie werden nicht horizontal gelegt, sondern leicht geneigt; der das tryptische Ferment enthaltende Tropfen wird dann infolge seiner verflüssigenden Eigenschaft eine kleine Furche bilden, deren Länge von der Zeitdauer der Einwirkung, der grösseren oder geringeren Schräglage der Platte, von der Grösse des Tropfens und der Stärke des tryptischen Enzyms abhängig ist (P. 6. 636).

Verflüssigende Bakterien erzeugen neben einem leimlösenden Enzym nicht selten **Lab.** Darauf wurde Conn bei seinen im Interesse der Milchwirtschaft angestellten Forschungen aufmerksam und er erkannte, dass, wenn solche Bakterien in sterilisierter Milch zur Entwicklung gebracht wurden, der Käsestoff nicht infolge einer Säurebildung zum Gerinnen gebracht, sondern durch ein labähnliches Ferment niedergeschlagen ward; ferner stellte sich heraus, dass im Zimmer wachsende Kulturen mehr Lab, im Brutschrank gezüchtete mehr proteolytisches Ferment lieferten. Wenn auch nicht vollständig, so doch in wenigstens annähernd reiner Form gelang es Conn, das labähnliche Ferment von dem andern folgendermassen zu trennen (C. 12. 223):

Es wird eine Kultur in sterilisierter Milch angesetzt. Eine Woche oder 10 Tage nach ihrer Gerinnung schüttelt man tüchtig mit etwas sterilisiertem Wasser, um die Gerinnsel zu zerteilen und das Lab zu lösen, und filtriert darauf durch eine Chamberlandsche Kerze. Das Porzellanfiltrat wird mit 0,1% Schwefelsäure etwas angesäuert, wobei sich kein Niederschlag bildet. Dann gibt man einen bedeutenden Ueber-

schuss von gewöhnlichem Salz zu, bis sich eine übersättigte Lösung bildet. Aus dieser sondert sich nun eine Masse ab, die als schneeweisser Schaum auf der Oberfläche schwimmt. Der Schaum, der ziemlich reines Labferment ist, wird abgenommen und getrocknet; das in ihm noch enthaltne Salz kann, was jedoch nicht nötig ist, durch Dialyse (S. 225) entfernt werden. Die zurückbleibende Flüssigkeit enthält, nachdem das Lab entfernt ist, noch den grössten Teil des proteolytischen Ferments, das durch Fällung mit Alkohol abgeschieden werden kann. Das auf die beschriebene Weise gewonnene Lab besitzt die Eigenschaft, und dies ist der Beweis für das Gelingen, sterilisierte Milch zum Gerinnen zu bringen, allerdings langsamer, als das im Handel erhältliche. Bei einer Wärme von 63—75° verliert es seine Wirksamkeit.

Der Nachweis der Bildung eines **diastatischen** Ferments gelingt durch Züchtung der Bakterien in Stärkekleister, dem etwas Kochsalz zugesetzt ist. Im gegebnen Falle wird nach erfolgter Entwicklung der Ausfall der Probe mit Fehlingscher Lösung auf Zucker positiv sein; die Bestimmung kann mit der Titration auch quantitativ gemacht werden (Cavazzani, C. 13. 587). Getrennt von den Bakterien wiesen Lauder Brunton und Macfadyen (Cr. 8. 203) das diastatische Ferment dadurch nach, dass sie die Kulturen mit 1% Chloroform behandelten, bis die Keime abgetötet waren, und das Gemisch zu frischer Stärke zusetzten, die dann vollständig in Zucker oder, wenn es sich um eine Bakterienart mit geringerem Fermentvermögen handelte, in Dextrin verwandelt wurde.

Invertierende Fermente, wie sie namentlich von Hefen gebildet werden, wandeln Rohrzucker, Milchzucker, Maltose in Glykose (Dextrose, Lävulose, Galaktose) um, was mit Hilfe des Polarisationsapparates zu erkennen ist.

Von Harnbakterien, insbesondre von Micrococcus ureae wollte Musculus ein wasserlösliches, wirksames Enzym abgetrennt haben, das die **Hydratation** oder Hydratisierung im Harn bewirkt, d. h. gewisse Amidoverbindungen des Harns unter Wassereinlagerung zerlegt. Wir wissen jedoch seit v. Leubes Untersuchungen, dass auch einer Reihe andrer Bakterien die Eigenschaft, den Harnstoff zu zerlegen zukommt und müssen annehmen, dass dies unter dem unmittelbaren Einflusse der Lebensthätigkeit der Mikroorganismen geschieht, ohne dass ein Enzym dabei in Wirkung kommt.

Nachweis von alkaloidähnlichen und andern wirksamen oder giftigen Stoffen.

Schon ehe die Kunst der Erzielung von Reinkulturen eingeführt und ausgebildet war, widmete man sich der Erforschung chemischer, unter der Einwirkung von Bakterien entstandner, hitzebeständiger Stoffe in faulenden Dingen, also in Bakteriengemischen. Mit mancherlei Verfahren hat eine Anzahl von Forschern dieser Frage ihre Aufmerksamkeit zugewendet.

Selmi fand basische, stickstoffhaltige Körper in faulenden menschlichen Leichen, sog. Ptomaine (πτῶμα = Leichnam), Panum wies zu-

erst auf das Vorkommen giftiger Fäulnisbasen hin, und Nencki ermittelte an einem von ihm aus faulender Gelatine gewonnenen Alkaloide die Elementarzusammensetzung als eine mit Collidin isomere Verbindung. Eigner Darstellungsweisen bedienten sich Stas-Otto, Dragendorff und nachher Brieger, im besondern auf dem Gebiete der bakteriellen Produkte.

Später gelang es dann namentlich Roux und Yersin, Brieger und C. Fraenkel aus den Reinkulturen verschiedner Krankheitserreger oder aus den Organen ihnen erlegner Tiere giftige Stoffe zu gewinnen, die sich durch ihre ausserordentliche Empfindlichkeit gegen gewisse schädigende Einflüsse, vornehmlich höherer Wärmegrade auszeichneten.

Man hielt diese Gifte zuerst für Abkömmlinge der in der Züchtungsflüssigkeit oder im Körper vorhandnen Eiweisstoffe, erzeugt durch die Lebensthätigkeit der Bakterien. Die Thatsache jedoch, dass dieselben Gifte auch in eiweissfreien Lösungen, wie Harn (Guinochet) oder von Asparagin mit Mineralsalzen (Buchner) sich fanden, führte zu dem Schlusse, dass sie aus dem Zellleibe der Bakterien stammend, in die umgebende Flüssigkeit übergegangen waren (Buchner M. 93. 480).

Man kennt verschiedenartige in der Bakterienzelle enthaltne Stoffe, einerseits hitzebeständige von eigentümlicher (entzündungerregender) Wirkung sowohl gegenüber dem gesunden, als insbesondre auf den erkrankten, von Bakterien befallenen Körper der Menschen und Tiere, andrerseits hitzeunbeständige, gegen chemische und physikalische Einflüsse sehr empfindliche Substanzen von hoher Giftigkeit.

Die **Namengebung** für alle die vorgenannten Stoffe gestaltete sich folgendermassen:

Die alkaloidähnlichen Körper teilen sich nach Brieger in ungiftige und giftige. Den ungiftigen wurde im Andenken an Selmi die Bezeichnung Ptomaine belassen, während die giftigen den Namen Toxine bekamen.

Der ebenfalls in diese Gruppe fallende Begriff Leukomaine (λευκῶμα-Eiereiweiss) stammt von Gautier und ist für Alkaloide, die als Produkte des Stoffwechsels im normalen Körper, im Urin, in den Muskeln, in den Sekretionsorganen und deren Absonderungen u. s. w. gefunden werden, wie Xantho-, Amphi-, Cruso-Kreatinin, Pseudoxanthin u. s. w.

Die hitzebeständigen Stoffe des Zellinhaltes der Bakterien wurden von Buchner insgesamt Proteïne genannt. Einzeln unterscheiden wir sie je nach den Kleinwesen, woraus sie gewonnen, entweder durch einen aus dem Namen der betreffenden Bakterienart und dem Wort Proteïn zusammengesetzten Ausdruck — z. B. Pneumoniebazillen-Proteïn — oder einfacher durch Anhängung der Endsilbe in an den Stamm des die betreffende Bakterienart bezeichnenden Wortes — z. B. Anthracin, Malleïn, Pyocyanin, Tuberkulin.

Die hitzeunbeständigen, in der Züchtungsflüssigkeit der Bakterien nachgewiesnen Stoffe erhielten den Namen Toxalbumine (Brieger und C. Fraenkel), oder Albumosen (Hankin). Die hitzeempfindlichen, unmittelbar dem Zellleibe der Bakterien entzognen Gifte, wie sie von R. Pfeiffer aus den Choleravibrionen erhalten wurden, haben einen besondern Namen nicht bekommen.

Bezeichnungen, wie Proteïne, Toxalbumine, Albumosen reihen die Körper unter die **Eiweissstoffe** ein.

Nun macht Behring*) mit Duclaux (P. 5 und 6) geltend, dass der Begriff Eiweiss ein ebenso unbestimmter ist, wie die gebräuchlichen Reaktionen auf Eiweisskörper wenig bezeichnend sind und hält es für geraten, den Gebrauch des Wortes Eiweiss und aller damit zusammenhängenden Worte zum Zweck einer Aussage über die Natur eines chemischen Körpers möglichst zu vermeiden.

Mit den von jenen beiden Forschern gegen sie gemachten Einwendungen lasse ich die gebräuchlichsten Eiweissreaktionen hier folgen**).

I. Farbenreaktionen:

1. Xanthoproteïnreaktion: Gelbfärbung mit starker Salpetersäure, namentlich in der Wärme.
   Stammt von Indol, Skatol und verwandten Körpern her.
2. Adamkiewiczsche Reaktion: Violettrote Färbung mit einem Gemisch von 1 Teil konzentrierter Schwefelsäure + 2 Teilen Eisessig, namentlich in der Wärme. (Leim zeigt die Probe nicht.)
   Sie tritt bei der Indolgruppe und besonders schön dann auf, wenn die zu prüfende Flüssigkeit „l'acide scatolcarbonique“ enthält.
3. Millons Probe: Rotfärbung beim Kochen mit Millons Reagens, bestehend aus einer Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd in Salpetersäure, die salpetrige Säure enthält.
   Ist weiter nichts, als eine Tyrosinreaktion, die auch dem Phenol, Kresol u. a. hydroxylierten Benzolabkömmlingen zukommt.
4. Biuret-Probe: Rotviolette Lösung mit Natronlauge und einigen Tropfen verdünnter Kupfersulfatlösung, entweder bereits in der Kälte (Peptonreaktion) oder nach dem Kochen.
   Sie wurde bei der Asparaginsäure (Grimaux) und bei Aethern des Glykokoll (O. Löw) gefunden.

II. Fällungsreaktionen:

1. Gerinnung beim Kochen in schwach saurer (namentlich essigsaurer) Lösung; sie wird durch Gegenwart von Salzen beschleunigt. Die Gerinnungstemperatur (Koagulationspunkt) ist für verschiedne Stoffe anders und wird zur Erkennung und Abscheidung einzelner benutzt.
2. Niederschlag auf Zusatz verdünnter Salpetersäure von sog. Xanthoproteïnsäure. Peptone zeigen diese Reaktion nicht. Ueberschüssige Essigsäure, sowie Mineralsäure lösen Eiweissstoffe. Mucin und mucinähnliche Körper sind im Ueberschuss der Essigsäure unlöslich, werden aber durch Mineralsäuren meist gelöst.

---

*) Behring, Die Geschichte der Diphtherie. Leipzig bei Thieme. 1893.

**) Zusammengestellt nach Th. Weyls Lehrbuch der organischen Chemie für Mediziner. Berlin bei A. Hirschwald. 1891. S. 540.

3. Fällbarkeit durch Ferrocyankalium bei Gegenwart eines Ueberschusses verdünnter Essigsäure.
4. Fällbarkeit aus essigsaurer Lösung durch Sättigung mit Kochsalz.
5. Fällbarkeit durch viele Alkaloidreagentien (S. 230).

Diese Fällungsreaktionen sind noch viel weniger einwandfrei wie die Farbenreaktionen.

Trotzdem, dass also diese Reaktionen einen einwandfreien Nachweis der Eiweissnatur eines Stoffes nicht zulassen, so ist es doch nicht ausgeschlossen, dass es sich bei den fraglichen, den Bakterienzellen entstammenden wirksamen oder giftigen Substanzen um Stoffe handelt, die mit den Eiweissstoffen der Körperzelle gewisse Uebereinstimmungen zeigen. Die Toxalbumine nämlich (und die im Blutserum etwa enthaltnen bakterienfeindlichen Stoffe — Alexine, worüber später) besitzen, den Darlegungen Buchners zufolge (M. 93. 449), in ähnlicher Weise, wie die aus Eiweiss bestehenden, roten Blutzellen, bei Gegenwart von Wasser eine grosse Empfindlichkeit gegen schädigende Einflüsse, vornehmlich höhere Wärmegrade, die durch wasserentziehende Wirkung gewisser Neutralsalze, und zwar insbesondre der Sulfate der Alkalien, bedeutend abgestumpft werden kann.

Ehe wir in die Abhandlung über den Nachweis und die Gewinnung der einzelnen Stoffe eintreten, erübrigt noch, der **Apparate** zu gedenken, die dazu im Gebrauch, bisher aber noch nicht erwähnt worden sind.

Filter zur Trennung der Bakterien von ihrer Nährflüssigkeit müssen aus der zulässig engporigsten Masse dargestellt sein. Tiegel und Klebs, die 1871 die ersten derartigen Filtrationen vornahmen, benützten dazu Gips. Pasteur später Porzellan, ein Material, das wir noch heute in Form der Chamberlandschen Kerzen gebrauchen. Die Porzellanfilter haben, wie Sirotinin (Z. 4. 288) zeigte, den Nachteil, nicht alle gelösten Stoffe durchzulassen, namentlich nicht im Beginne der Filtration; auch leidet mit der Zeit ihre Leistungsfähigkeit. Bitter (Z. 10. 156) hat diesen Missstand bei den neuen, auf Nordtmeyers (Z. 10. 156) Veranlassung von Berckefeld fabrizierten Kieselgurfiltern nicht mehr beachten können, da ihre innere Oberfläche durch einen Lufahwischer zugleich mit den angesetzten festen Bestandteilen entfernt werden kann und empfiehlt die Filter aus Infusorienerde, weil sie mit Sicherheit in der Wirkung den Vorzug grösserer Förderung von Filtrat verbinden. (Zur Prüfung der Leistungsfähigkeit der Filter haben Giltay und Aberson [C. 12. 92] eine besondre Vorrichtung beschrieben, eine noch einfachere [C. 12. 628] Th. Smith und V. A. Moore.)

Durch die engen Poren muss die zu filtrierende Flüssigkeit mit einiger Kraft getrieben werden; das kann entweder durch Druck oder, was häufiger geschieht, durch Saugung mit einer Wasserstrahl- oder andern Luftpumpe (s. S. 133) bewerkstelligt werden.

Was die Form der Filtervorrichtungen betrifft, so ist die Anordnung von Kitasato (Z. 10. 269) die empfehlenswerteste:

Man steckt das untere Ende des untern Halses b der Glaskugel a (Fig. 107) 3—4 cm weit in einen ziemlich starken, dazu passenden Gummischlauch, dessen Länge im ganzen 7—8 cm beträgt; nun bringt man ein vorher geprüftes Kerzchen c mit der Oeffnung nach oben, vom untern Ende des Gummischlauchs beinahe bis zum Boden der Kugel a. Man bindet dann den Gummischlauch auf dem Glase und auf der Kerze fest und zieht einen durchbohrten Gummistopfen darüber, den man bis zur Mitte des Halses der Kugel hinaufschiebt. Endlich bringt man das Kerzchen in eine Saugflasche d, die durch den Gummistopfen geschlossen wird. Zur Sterilisierung füllt man in die Kugel a etwas Wasser und versieht die obere Oeffnung h und die äussere Mündung des Saugröhrchens i mit Wattepfröpfchen. Nachdem der strömende Wasserdampf 1—1 1/2 Stunden gewirkt hat, nimmt man den Apparat heraus, entleert das Wasser aus a und d und lässt abkühlen. Die zu filtrierende Flüssigkeit kommt in die Kugel a; um die Luft im Innern des Kerzchens zu vertreiben, steckt man einen langen, sterilisierten Platindraht hinein und rührt vorsichtig um. Darauf verbindet man mit dem Gummischlauch das Saugröhrchen i mit einer Woulfschen Waschflasche, die wiederum mit einer Saug-(Wasser-)Pumpe in Verbindung steht, und lässt dann so langsam saugen, dass in einer Minute 3—5 Tropfen durchs Filter gehen.

Fig. 107.

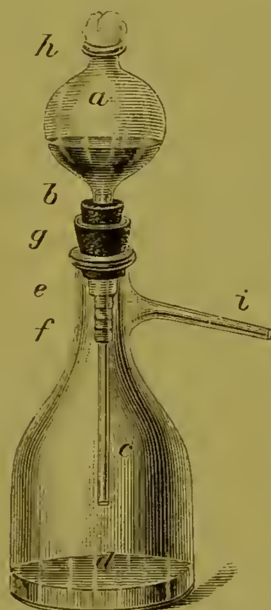
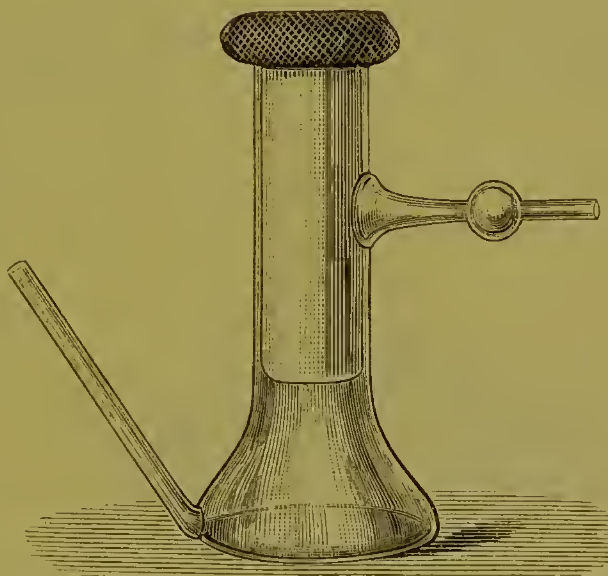


Fig. 108.



Geräumigere Filterkerzen verwendete Reichel (Fig. 108). Man hat dabei die Möglichkeit, den Filterrückstand bequemer abkratzen zu können.

Zum Abkratzen haben Dzierzgowski und Rekowski halbkreisförmige Raspeln aus Silber von 900 Feingehalt verfertigen lassen; die Komposition besitzt genügende Festigkeit und ist trotzdem weich genug, um die Wand des Filters nicht anzugreifen oder Teile davon mitzunehmen, was zu Fehlern Veranlassung geben könnte.

Pukall empfahl Filter in Kölbchenform aus sehr hart gebranntem Thon, die selbst beim festen Einsetzen eines Kautschukstopfens nicht zerbrechen. Durch eine Röhre mit der zur Aufnahme des Filtrats bestimmten Saugflasche verbunden, wird der kleine Ballon in die zu filtrierende Flüssigkeit hineingestellt (Hr. 3. 818).

H. Aronson stellte sich seine Filter aus kolloidaler Thonerde selbst her (Prager med. Wchschr. 91. 512):

Aus einer nicht zu konzentrierten Lösung (etwa 13 %) von schwefelsaurer Thonerde oder Alaun wird mit einem Ueberschuss von Ammoniak das Ammonium-

hydroxyd als gallertige, schneeweisse Masse ausgefällt. Man lässt den Niederschlag absetzen, was schnell von statten geht. Er wird in hohem, weitem Standgefäss durch Entfernung der überstehenden Flüssigkeit mit dem Heber so oft mit destilliertem Wasser ausgewaschen, bis eine völlig neutrale Reaktion erreicht ist. Der nach der letzten Auswaschung und Abheberung bleibende Niederschlag wird in grössere Flaschen gefüllt aufbewahrt.

Auf einem Hirschschen Porzellantrichter mit Filterplatte wird zuerst ein Stück Filtrierpapier und dann eine $^1/_2$—1 cm dicke Schicht der vorher schon etwas entwässerten Thonerde gebracht; der Apparat wird durch langsame Erhitzung auf 140° sterilisiert. Wurde vorher die Filtermasse nicht durch allzu starkes Absaugen getrocknet und lässt man die hohe Wärme nicht zu lange einwirken, so erhält man ohne weiteres eine gleichmässige Filtrierschicht. Will man jedoch ganz sicher Sprünge, die bei Abkühlungen manchmal entstehen, vermeiden, so thut man gut, ein wenig kochend heisses, steriles Wasser bald nach Herausnahme des Apparats aus dem Trockenschrank in den Trichter zu giessen. Bei der Filtration werden die Trichter mit sterilen Glasplatten bedeckt.

Als Nebengegenstände für Filtrierungen sind Schraubenquetschhähne, Glas- oder Metallhähne, Woulfsche Flaschen und Gummischläuche mit sehr dicker Wandung nötig.

Um Lösungen und Stoffe, die gewisse bakterielle, schon bei verhältnismässig geringer Wärmesteigerung zersetzliche Körper enthalten, abzudampfen, dienen die **Vakuumdestillierapparate.**

Fig. 109.

Die erste für derartig subtile Arbeiten bestimmte Vorrichtung wurde nach Briegers Angaben von F. & M. Lautenschläger gefertigt*).

Sie besteht, wie Fig. 109 veranschaulicht, aus einer Destillierblase mit Metallmantel, einem Kühler, zwei als Vorlage dienenden Woulfschen Flaschen und einer Wasserstrahlluftpumpe mit Rückschlagventil.

Fig. 109 zeigt im Durchschnitt die Konstruktion der Destillierblase als den wichtigsten Teil des Apparats; sie besteht aus einem doppelwandigen, halbkugelförmigen Wasserbad, das durch den seitlich angebrachten Tubus g mit Wasser zu füllen ist; im letztern mündet ein rechtwinklig gebognes Metallrohr a, das bis an die höchste Stelle des Bades reicht, damit eine vollständige Füllung herbeigeführt werden kann. Dieses Rohr setzt sich nach aussen fort und dient zur Abführung des überschüssigen Wassers, sowie des Dampfs, der in einem vorgelegten Gefässe kondensiert werden kann. Auf der massiv gearbeiteten Decke H des Wasserbads F liegt ein durchlochter Metallring b, der nach dem Luftraum J übersteht, so dass beim Einhängen der die verdampfende Flüssigkeit aufnehmenden Porzellanschale K ein Raum entsteht, der behufs bessrer, gleichmässiger Wärmeverteilung mit ausgeglühtem Sand angefüllt wird.

Das doppelwandige Wasserbad F ruht auf starken, schmiedeeisernen Füssen und wird von einem massiven, aus gehämmertem Kupfer hergestellten, innen verzinnten Helm L bedeckt, der zwei Tuben M, sowie zwei mit Messingflanschen verschraubte, 10 mm dicke Glasaugen besitzt; die beiden Glasaugen sind luftdicht eingesetzt und dienen zur Beobachtung der Vorgänge im Innenraum während der

*) Zeitschrift für klin. Medizin. Bd. 17. Suppl.

Destillation. Im Tubus M befindet sich ein bis auf den Boden der Porzellanschale reichendes Thermometer P, und in den andern Tubus ist mit dem Gummistopfen ein gebognes Glasrohr Q luftdicht eingesetzt, das zur Einleitung von Luft, sowie Gasen während der Destillation dient.

An der Innenseite des Hahnes ist ein trichterförmiger Rand R angebracht, um die bei unterbrochner Destillation zurückfliessenden Flüssigkeiten wieder in die Schale zurückzuführen. Oberhalb dieses Randes ist das nach abwärts gebogne Metallrohr S eingefügt, das die abgesaugten Dämpfe dem Kühler zuführt.

Der luftdichte Verschluss des Helms L mit dem Wasserbad F wird durch einen zusammengefügten Gummischlauch T in einfachster Weise erzielt, indem nach Aufsetzung des mit einem Rand versehenen Helmes der Schlauch durch einen Ueberfallrand U mit 4 Schrauben mit Flügelmuttern fest zusammengepresst wird, so dass er sich genau der gegebnen Form anpasst.

Ueber dem kupfernen Helm ist ein Metallmantel Z mit zwei die Glasaugen bedeckenden, runden Glimmerscheiben derart aufgesetzt, dass zwischen Helm und Mantel ein Luftraum V entsteht, den naturgemäss der vom Brenner W erzeugte heisse Luftstrom in der angegebnen Pfeilrichtnng passieren muss. Durch diese einfache Anordnung erzielt man die zu einer flotten Destillation erforderliche Oberwärme und wird dadurch eine Verdichtung der sich durch Verdampfung der Flüssigkeiten in der Porzellanschale bildenden Dämpfe, sobald sie die Helmfläche bestreichen, bei gleichzeitiger vollständiger Ausnützung der Heizquelle, vermieden. Das Metallrohr S liegt in dieser warmen Luftzone, um eine Verdichtung der abziehenden Dämpfe zu verhindern.

Von dem Metallrohr S gelangen die Dämpfe in einen Kühler und werden dort verdichtet. Das Destillat fliesst in eine dreihalsige Woulfsche Flasche, in deren mittlerem Tubus sich ein verkürztes Barometer mit Millimetereinteilung befindet, das die Grösse des Vakuums abzulesen gestattet. Bei der Destillation leicht flüchtiger Stoffe empfiehlt es sich, noch eine zweite Woulfsche Flasche einzuschalten, die in einem mit Eisstücken angefüllten Gefässe steht.

Das Vakuum wird mit einer Wasserstrahlluftpumpe erzeugt; bei genügendem Wasserdruck kann man innerhalb 15 Minuten ein solches von 30 mm erzielen, so dass z. B.

Alkohol bereits bei 13° C. lebhaft überdestilliert und bei 19° C. siedet,
Wasser bei 20° C. überdestilliert und bei 33° siedet.

Um bei stundenlangem Arbeiten die Wärme noch sichrer gleichmässig halten zu können, wie mit dem Briegerschen Apparate, und alle Keime auszuschliessen, die etwa bei der Füllung aus der Luft mit hineinkamen und Zeit hatten, sich zu vermehren, ferner um mit grösseren Flüssigkeitsmengen arbeiten zu können, haben Dzierzgowski und Rekowski folgende Anordnung getroffen (C. 11. 685):

Das 3—4 l haltende, konische Aufnahmegefäss A*) (Fig. 110) ist mit drei Tuben versehen, von denen die unterste zur Entfernung des Rückstandes dient; es steht in einem kupfernen Wasserbad von ähnlicher Form, das mit dem Thermometer und Thermoregulator in der Wärme gleich gehalten wird. Ausserdem gehören dazu von gekrümmten Glasröhren durchsetzte Gummipfropfen, Chamberlandsche Filterkerzen, dickwandige Gummischläuche, zwei langhalsige Woulfsche Flaschen mit Manometer, ein Liebigscher Kühler und eine Wassersaugpumpe (es genügt ein Wasserdruck von ½ Atmosphäre).

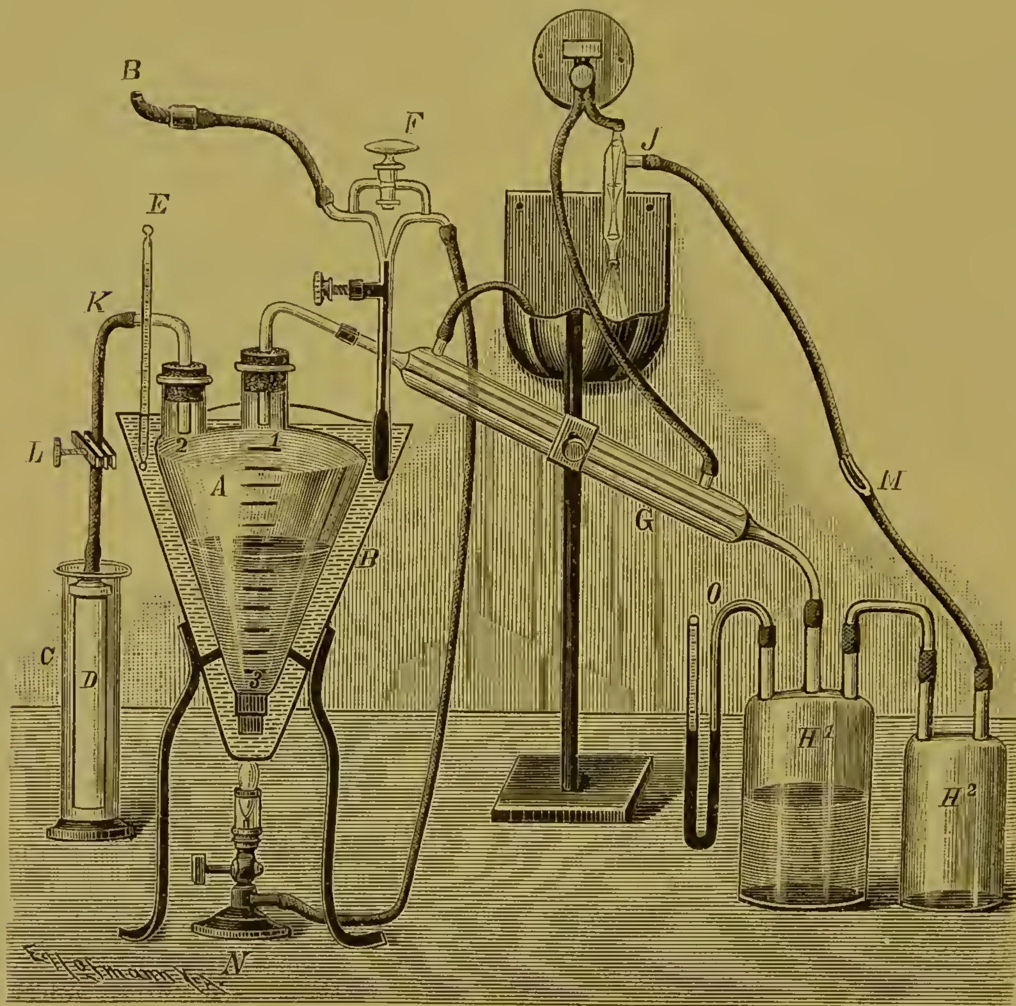
Zum Gebrauche stellt man das Gefäss A, nachdem es mit Sublimat ausgewaschen, mit Alkohol und Aether ausgespült und seine 3 Oeffnungen mit sterilisierten Gummistopfen verschlossen, mit dem konischen Teil nach unten in die Wanne. Ueber den Stopfen bei 3 kommt noch eine sterilisierte, fest anliegende Gummikappe. Man nimmt sodann die Stopfen bei 2 und 1 weg und verbindet diese Oeffnungen durch durchbohrte, mit Glasröhren versehene Gummistopfen einerseits durch einen Gummischlauch mit der Filtrierkerze D, die in einem entsprechend hohen Glascylinder C steht, andrerseits mit dem Liebigschen Kühler G; dieser ist wiederum durch die Woulfschen Flaschen (H^1 und H^2) mit der Wasserluft-

*) Hier ist die schwache Stelle des Apparats. Denn die Herstellung aus Glas bringt Gefahr. Bei starkem negativen Druck kann das Gefäss zerbrechen.

pumpe J in Verbindung. Vorher sind die Ansatzstücke, der Gummischlauch und die Kerze im Dampftopf ordentlich zu sterilisieren. (Die langhalsige Form ist deshalb gewählt, um die Woulfschen Flaschen ganz mit Eis oder Schnee umhüllen zu können und somit von den flüchtigen Destillationsprodukten so wenig wie möglich zu verlieren.)

Wenn nun alle Verbindungsstücke luftdicht schliessen, so öffnet man den Hahn der Wasserleitung, und die daran angesetzte Pumpe J fängt an, die Luft aus dem Apparat auszusaugen. Jetzt füllt man das cylindrische Gefäss, in dem die Filtrierkerze sich befindet, mit der zu filtrierenden Flüssigkeit. Nach Verlauf von circa 7 Minuten fangen die ersten Tropfen des Filtrats das Gefäss A zu füllen an. Sobald man nun die gewünschte Menge des Filtrats erhalten hat, klemmt man mit der Schraube L den Filtrierschlauch ab und unterbricht auf diese

Fig. 110.

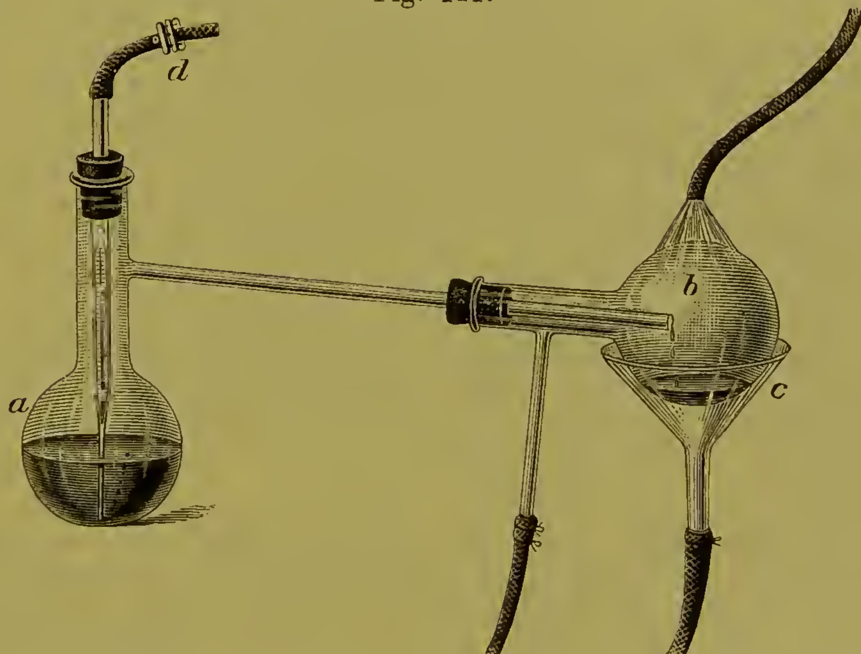


Weise den Prozess. Jetzt wird das Gefäss B mit Wasser gefüllt; da es höher ist, als das gläserne Gefäss A, so kann man so viel Wasser eingiessen, dass dieses ganz unter Wasser steht. Nachdem jetzt der Brenner N angezündet und die Temperatur des Wasserbades durch den Thermoregulator auf 38° C. gestellt ist, überlässt man den Apparat sich selbst. Im Verlaufe von 24 Stunden werden 2 l Flüssigkeit bis auf 100 ccm eingeengt. Nach beendeter Operation lässt man die Luft auf folgende Weise in das Gefäss A eintreten: Die Filtrierkerze wird vom Schlauche K abgenommen und an ihrer Stelle ein an einer Stelle eingeengtes Glasrohr, mit Watte unter der Einengung gefüllt, angesetzt. Lüftet man jetzt die Schraube L, so tritt die Luft durch Watte filtriert in den Apparat. Die Entleerung des Gefässes kann durch irgend eine der Oeffnungen geschehen, nur in einem Falle, wo bis zur harzigen Konsistenz eingedampft wurde, wird sie durch die Oeffnung 3 stattfinden müssen und zwar vermittelst eines gekrümmten Spatels.

Im Gegensatz zu diesen komplizierteren Vorrichtungen steht die von Petri bei seinen Untersuchungen über die chemischen Umsetzungen der Cholerabakterien (K. A. 6. 374) benützte, von Anschütz*) beschriebne einfache Zusammenstellung, mit der man in gewissen Fällen ausreicht, namentlich, wenn es nicht auf ganz genaue Einhaltung von bestimmten niedern Wärmegraden ankommt.

Die zu verarbeitende Flüssigkeit kommt in den Fraktionierkolben a (Fig. 111), der bis 2 l gross genommen werden kann. Durch einen Kautschukstöpsel wird das Destillationsrohr mit dem Kolben b verbunden. Der Kolben a ist mit einem Kautschukpfropfen verschlossen. Dieser trägt in seiner Durchbohrung ein unten zur dünnen biegsamen Kapillare ausgezognes Glasrohr, in das ein empfindliches, kurzes Fraktionierthermometer (mit Stickstoff gefüllt) eingeführt wird. Ueber das obere Ende des Glasrohrs ist ein Stück Kautschukschlauch gezogen, dessen Lichte durch eine Schraubenklemme geschlossen werden kann. Der Destillierkolben steht in einem Wasser- oder besser Paraffinbade, dessen Wärme durch ein zweites Thermometer kontrolliert wird. Das Destillationsrohr der Vorlage wird durch

Fig. 111.



einen nicht zusammendrückbaren Schlauch unter Einschaltung eines Quecksilbermanometers und eines Dreiwegehahns mit der Wasserstrahlluftpumpe verbunden. Der Kolben selbst wird durch aufgeleitetes Wasser ausgiebig gekühlt. Das Kühlwasser fliesst durch den Trichter c ab. Alle Schlauchverbindungen werden durch Drahtumschnürungen luftdicht gemacht. Während der Absaugung wird der Quetschhahn bei d so weit geöffnet, dass ein Strom von winzigen Luftblasen fortwährend die in a befindliche Flüssigkeit durchperlt. Aufschäumung und Ueberreissung von Flüssigkeit wird dadurch möglichst vermieden.

Zur Befreiung eiweissartiger Körper von Salzen bedarf man der **Dialysatoren** (Fig. 112). Sie bestehen aus einer runden Glaswanne, die mit Wasser gefüllt wird; hinein taucht ein Glascylinder, dessen untere Oeffnung mit feucht übergezognem und festgebundnem Pergamentpapier verschlossen ist; dieses lässt zwar die Salze der innen aufgegossnen Lösung durchtreten, nicht aber die kolloiden, nicht krystallisier-

*) Ueber die Destillation im luftleeren Raum. Bonn, Selbstverlag von Anschütz 1886.

baren Stoffe (Eiweiss, Leim u. s. w.). Vor dem Gebrauche hat man sich der Dichtigkeit des Pergamentpapiers durch Aufgiessung von Wasser zu versichern; ist sie nicht vollständig, so kann durch Auftragung von flüssigem Eiweiss und nachheriges Gerinnenlassen durch Erwärmung nachgeholfen werden. Ist an einer weitern Verwendung des Salzes nicht gelegen, so darf das Wasser im äussern Gefäss durch Verbindung mit der Wasserleitung immer im Zu- und Abfluss gehalten werden.

Fig. 112.

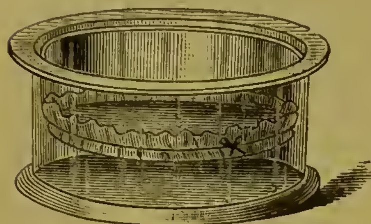


Fig. 113.



Sind die der Dialyse zu unterwerfenden Mengen klein, so genügt dafür ein oben zugebundnes Säckchen aus Pergamentpapier, das ins Wasser gehängt und womöglich in drehender Bewegung erhalten wird.

Trennungen zweier nicht mischbarer Flüssigkeiten von verschiednem spezifischem Gewichte (z. B. Aether und Wasser) werden im **Scheidetrichter** vorgenommen (Fig. 113 und 27). Nach Einfüllung des Gemisches wird der Stopfen aufgesetzt und gut geschüttelt, der Stopfen dabei mit Fingerdruck gehalten und zeitweise gelüftet, um den Aetherdämpfen Austritt zu gewähren. Dann befestigt man den Trichter in einer Klemme am Stativ, wartet, bis die leichtere Flüssigkeit oben gelagert ist, nimmt den Stopfen ab, hält ein Gefäss unter und öffnet vorsichtig den Hahn, um das Wasser abzulassen; kommt die Aether- etc. Schichte zum Durchtritt, so schliesst man augenblicks den Hahn. Neben einem grössern, etwa von ½ l, bedarf man auch kleinerer Scheidetrichter von 50—100 ccm Inhalt.

Rückflusskühler werden in geeigneter Weise in der Liebigschen Form gewählt (Fig. 110 G); für sie gehört eine geeignete grosse und starke doppelarmige Klemme, die in einer beweglichen Doppelmuffe am Stative befestigt ist. Die Länge des Kühlers betrage 60, die des durchgesteckten, durch übergezogne Gummischläuche mit ihm wasserdicht verbundnen Rohrs 70—80 cm.

Gewinnung von Alkaloiden und alkaloidähnlichen, hitzebeständigen Stoffen.

Die für die Gewinnung von Ptomainen und Toxinen geeignetste Methode, wie sie sich vor allen bei tierischen Geweben bewährt hat, ist von Brieger*) ausgearbeitet und beschrieben:

Die zu verarbeitenden Massen werden fein zerhackt, mit schwach salzsäurehaltigem Wasser ausgekocht. Das Kochen, während dessen die schwach saure Reaktion erhalten bleiben muss, soll nur wenige

---

*) Brieger, Ueber Ptomaine. Berlin bei A. Hirschwald. 3 Teile 1885 u. 1886. 3. Teil S. 19.

Minuten andauern. Dann filtriert man vom Unlöslichen ab und dampft das Filtrat anfänglich auf einem Gasofen, bei zunehmender Konzentration aber auf dem Wasserbade zur Sirupdicke ein. Der eingedampfte dickflüssige Sirup wird mit 96 %igem Alkohol aufgenommen, das Filtrat mit warmer, alkoholischer Bleiacetatlösung versetzt. Vom Bleiniederschlage wird abfiltriert, zum Sirup eingedampft und dieser noch einmal mit 96 %igem Alkohol erschöpft. Dieser Alkohol wird nun verjagt, mit Wasser aufgenommen, das Blei durch Schwefelwasserstoff entfernt und die Flüssigkeit mit wenig Salzsäure zur Sirupdichte eingeengt. Dieser Sirup wird mit Alkohol erschöpft und mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung gefällt. Der Quecksilberchloridniederschlag wird mit Wasser ausgekocht; es lassen sich dann schon durch die verschiedne Löslichkeit der Quecksilberdoppelverbindungen Trennungen einzelner Ptomaine erzielen. Glaubt man vermuten zu dürfen, dass durch den Bleiniederschlag Ptomaine mit niedergerissen seien, so kann man ihn durch Schwefelwasserstoff entbleien und nach dem weitern Untersuchungsgange mit verarbeiten.

Das Quecksilberfiltrat, von Alkohol und Quecksilber nach Aufnahme mit Wasser befreit, wird eingedampft, wobei die überschüssige Salzsäure durch Soda sorgsam abgestumpft wird — das Ganze darf nur noch schwach sauer reagieren — alsdann wird nochmals mit Alkohol wiederholt erschöpft, um die anorganischen Bestandteile möglichst abzutrennen. Der alkoholische Rückstand wird in Wasser gelöst, die Salzsäure durch Soda gebunden und mit Salpetersäure angesäuert, alsdann mit Phosphormolybdänsäure versetzt. Die abfiltrierte Phosphormolybdänsäuredoppelverbindung wird durch neutrales Bleiacetat zerlegt; das kann durch kurzes Erhitzen auf dem Wasserbade beschleunigt werden. Nach Entfernung des Bleis durch Schwefelwasserstoff kann der eingedampfte Sirup nun mit Alkohol behandelt werden, wodurch sich auch schon manche Ptomaine als Chlorhydrate ausschalten lassen, oder aber man bewerkstelligt durch Ueberführung in Doppelsalze eine Trennung dieser Substanzen. Auch in dem Phosphormolybdänsäurefiltrat kann nach Entziehung der Phosphormolybdänsäure durch neutrales Bleiacetat, bei Versetzung mit gewissen Reaktiven bisweilen noch irgend ein Ptomain erhalten werden. Es scheint noch erwähnungswert, dass man höchst selten die Chlorhydrate in reiner Form erhält, sondern dass es am zweckmässigsten erscheint, von der Eigenschaft dieser Substanzen, mit Goldchlorid, Platinchlorid und Pikrinsäure Doppelverbindungen einzugehen, Gebrauch zu machen, weil dann die grössere oder geringere Löslichkeit dieser Doppelsalze eine Reindarstellung der einzelnen Substanzen ermöglicht. Welches von diesen Reagentien am ehesten zum Ziele führt, lehrt die Erfahrung. Versäumt man nie, den Schmelzpunkt dieser Doppelverbindungen zu prüfen, so wird man sich leicht von dem Grade der Reinheit überzeugen. Zu beachten ist noch, dass sich manche Goldsalze beim Erwärmen in wässriger Lösung leicht zersetzen, ein Uebelstand, dem man durch Zusatz von Salzsäure leicht begegnen kann. Die salzsauren Salze dieser Substanzen erhält man aus den Doppelverbindungen dadurch, dass man aus den Quecksilber-, Platin- und Golddoppelverbindungen durch Schwefelwasserstoff die Metalle entfernt, während man aus den Pikraten durch Aufnahme mit Wasser, Ansäuerung mit Salzsäure und wiederholte Aus-

schüttlung mit Aether die Pikrinsäure wegschafft. Beträchtliche Schwierigkeiten bei der Reindarstellung der Ptomaine verursacht eine stickstoffhaltige, ungiftige, amorphe, eiweissartige Substanz, die in alle Lösungsmittel mit hineingeht und nur durch vorsichtige Ausfällung mit neutralem, alkoholischen Bleiacetat — im Ueberschuss davon ist sie löslich — entfernt werden kann. Danach krystallisieren die Chlorhydrate der Ptomaine oder deren Doppelsalze ohne weiteres.

Abweichungen von diesem schematischen Untersuchungsgange sind häufig genug notwendig, insofern als bei der Scheidung der einzelnen Körper das eine oder andre der Reaktive mehr oder weniger nützlich sich erweist (s. a. Kitasato und Weyls Untersuchungen über Tetanin, Z. 8. 404)*).

Wir sehen, derlei Arbeiten setzen einen geschulten Chemiker voraus von Anfang bis zu Ende, wo es sich noch um die Elementaranalyse des gewonnenen Körpers handelt, dessen chemische Formel womöglich herausgebracht und von dem festgestellt werden soll, ob man es mit einem neuen zu thun hat, oder mit einem schon bekannten.

Oft sind aber die erhaltnen Mengen viel zu geringe. Dann soll man wenigstens versuchen, die Krystallform des Körpers (S. 230) mit der Lupe oder unter dem Mikroskop zu ermitteln und seinen **Schmelzpunkt** zu bestimmen. Zu dieser Bestimmung braucht man nur ein Pröbchen der festen Substanz in ein enges, unten zugeschmolzenes Röhrchen zu stopfen, das mit einem Gummiring in der Höhe der Quecksilberkugel eines Thermometers befestigt, in ein mit Schwefelsäure gefülltes Becherglas versenkt wird, ohne dessen Boden zu berühren. Während der vorsichtigen Erhitzung sieht man zu, bis das Schmelzen zu beobachten ist, und notiert alsbald die augenblickliche Temperatur.

Schliesslich ist noch der **Tierversuch** nötig, um zu erfahren, ob und in welcher Weise und in welchen Gaben der Körper wirkt.

Dass selbst der vielbeschäftigte Arzt in der Lage ist, derartige Forschungen zu betreiben, bewies ausser Brieger der Chirurg Hoffa, zuerst in seinen Untersuchungen über die Natur des Milzbrandgiftes**) und später unter anderm in seinen Studien über die Sepsis und den Milzbrand***), wobei zum erstenmal experimentell ein Toxin aus dem mit Reinkulturen infizierten Tierkörper dargestellt wurde, und zwar Methylguanidin aus den Organen der der Impfung mit Bakterien der Kaninchenseptikämie erlegnen Kaninchen, ferner ein andres Toxin aus dem Körper von Tieren, die an Milzbrand zu Grunde gegangen waren.

Von den schon früher bekannten Verfahren zur Gewinnung von Alkaloiden, namentlich aus Pflanzen, hat man zum gleichen Zwecke auch bei Bakterienkulturen und bei tierischen Geweben, Gebrauch ge-

---

*) Angaben über die Methoden, die Befunde und die Literatur s. u. a. bei: Jacquemart, Les Ptomaïnes. Histoire et caractères chimiques. Cr. 9. 107. Schwalbe, Ptomaine, Leukomaine, Toxalbumine. D. 90. 807.

Th. Weyl, Lehrbuch der organischen Chemie für Mediziner. Berlin bei Hirschwald 1891. S. 540.

**) Wiesbaden bei J. F. Bergmann 1886.

***) Langenbecks Archiv für klinische Chirurgie. Bd. 39. S. 273.

macht, nämlich von der Dragendorffschen und von einer andern, von Stas angegebnen und von Otto abgeänderten Methode. Bei dieser ist der leitende Gedanke, dass die Alkaloide auf Säurezugabe saure Salze bilden, die in Wasser und Weingeist löslich, in Aether aber — ebenso wie die neutralen Salze — unlöslich sind; während, wenn die wässrige Lösung der sauren Salze **alkalisch gemacht** wird, die Alkaloide in Freiheit gesetzt werden und nunmehr beim **Ausschütteln mit Aether** oder Amylalkohol in diesen übergehen.

Hoffa hat in seiner erstgedachten Arbeit ausserdem noch folgendes einfachere, von E. Fischer ihm angegebne Verfahren versucht.

Die Kulturen auf Fleischbrei, Bouillon, Fleischextrakt-, Traubenzuckerlösungen wurden direkt mit Salzsäure oder Schwefelsäure angesäuert und dann im Vakuum abgedampft; der danach bleibende Rückstand ward mit absolutem Alkohol ausgezogen, die alkoholische Lösung durch ein mit Alkohol benetztes Filter geklärt und darauf ebenfalls im Vakuum verflüchtigt. Dadurch wurden alle Fette ausgeschaltet und man konnte die übrig bleibende Masse in wenig Wasser aufnehmen. Die durch Zusatz von Natronlauge freigemachten Basen wurden mit Aether ausgeschüttelt.

Brieger entschied sich gegen ein derartiges Vorgchen, da nur sehr wenig Ptomaine von Aether aufgenommen würden, auch manche dieser Substanzen sich sofort zersetzten, wenn sie mit Alkalien in Berührung kämen.

Es gelang mir im Verein mit Herrn Dr. Geyger, bei Versuchen über die Bildung von Giften der in Hühnereiern gezüchteten Milzbrandbazillen*) stark giftig wirkende Verbindungen zu erhalten, wenn wir den alkoholischen Auszug aus dem Eiinhalt erst mit 2prozentiger alkoholischer Sublimatlösung versetzten, dann filtrierten, das Filtrat mit alkoholischer Platinchloridlösung behandelten, den entstandnen Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegten und nach Filtration die mit Kalilauge alkoholisch gemachte Lösung teils mit Aether, zum andern Teil mit Benzol ausschüttelten. Allerdings war die Ausbeute nur gering, namentlich mit Aether; mehr dagegen ging in Benzol über. Nahm man die spärliche, nach der Verdunstung bleibende Substanz mit einigen Kubikzentimetern schwach sauern Wassers auf und spritzte davon einer Maus in die Bauchhöhle, so beobachtete man Augenthränen und starken Speichelfluss aus dem Munde; der Schweif stand steif in die Höhe, unter Muskelkrämpfen erfolgte der Tod und zwar bei einer Gabe von 0,5 ccm der Lösung des Benzolrückstandes nach 10 Minuten, während von der Lösung des Aetherrückstandes die gleiche Gabe ohne besondre Erscheinungen ertragen wurde; erst bei der doppelten Gabe folgten Augenthränen, Krämpfe und nach 2½ Stunden der Tod.

Das Ausschütteln geschieht im Scheidetrichter (S. 226). Nachdem man das unten geschichtete Wasser hat abfliessen lassen, so dass der Aether oder die sonst zum Ausschütteln benützte, in Wasser fast unlösliche, leicht verdunstende Flüssigkeit allein zurückgeblieben ist,

---

*) Sanitätsbericht über die königlich bayerische Armee für die Zeit vom 1. April 1889 bis 31. März 1891. Bearbeitet von der Militärmedizinalabteilung des königl. bayer. Kriegsministerium. München 1893. Anhang S. 81.

entnimmt man zunächst kleine Proben in Uhrschälchen und lässt sie verdunsten. Bleibt ein Rückstand, der auf das Vorhandensein von Alkaloiden schliessen lässt, so löst man ihn in schwach salzsauerm oder weinsauerm Wasser und gibt davon tropfenweise in andre Uhrschälchen, um mit Lösungen der allgemeinen **Reagentien auf Alkaloide** zu prüfen, ob ein Niederschlag entsteht, der nach Aussehen und Farbe kennzeichnend ist. Solche allgemeine Reagentien sind:

Platinchlorid,
Goldchlorid,
Quecksilberchlorid,
Kaliumquecksilberjodid*),
Kaliumwismuthjodid,
Kaliumkadmiumjodid,
Jodjodkalium,
Gerbsäure,
Kaliumbichromat,
Ferricyankalium u. Eisenchlorid,
Phosphorwolframsäure,
Phosphormolybdänsäure,
Phosphorantimonsäure,
Pikrinsäure.

Bei unserm vorhin genannten Versuche hat Geyger noch die fraktionierte **Krystallisation** angewendet und damit Krystalle erzielt, die sich unterm Mikroskop in Form feinster Nadeln darstellten und dieselben auffallenden Vergiftungserscheinungen bei Mäusen hervorriefen. Das Verfahren war folgendes:

Eiweiss und Dotter von zwei Milzbrandeiern wurden mit etwa der 10fachen Menge schwach essigsauern Alkohols übergossen; nach einiger Zeit wurde der Alkohol abfiltriert. Während ein Teil mit Platinchlorid, ein zweiter mit Quecksilberchlorid versetzt und in der oben beschriebnen Weise weiterbehandelt worden war, wurde im dritten Teil des Alkohols zunächst mit Quecksilberchlorid gefällt, filtriert, im Filtrat mit Platinchlorid Fällung erzielt, filtriert und nun also weiterbehandelt:

Platinniederschlag mit Wasser digeriert und gekocht.

Nach der Erkaltung filtriert (Filtrat scheidet im Exsikkator eine Ammoniakverbindung in Form von Oktaëdern ab).

Rückstand in heissem Wasser gelöst und in den Exsikkator über Schwefelsäure gebracht, wo die Ausscheidung von Krystalldrusen beginnt.

Zur weitern Einengung wird noch einige Zeit im Exsikkator aufbewahrt, dann einige Zeit bei 60° behandelt, Alkohol zugesetzt und über einer Kältemischung rasch abgekühlt.

Filtriert; Rückstand in 30—40 ccm heissen Wassers gelöst.

Schwefelwasserstoff eingeleitet.

Vom Schwefelplatin abfiltriert.

Filtrat mit Salzsäure versetzt und zur Verjagung des Schwefelwasserstoffs gekocht.

Mit Kalilauge alkalisch gemacht.

Mit Aether ausgeschüttelt.

Aetherrückstand in salzsauerm Wasser aufgenommen.

Wasser verdunstet und aus 2—3 g heissen 50%igen Alkohols umkrystallisiert.

---

*) Sog. Nesslers Reagens besteht aus: Kal. jodat. 4,0. — Hydrarg. bijodat. 12,0. — Aq. dest. 50,0. — Liq. Kali caustici 60,0.

Es bleibt eine Krystallform in Form mikroskopisch feinster Nadeln zurück in der Menge von 0,02 g, die in 2 g Wasser gelöst werden.

Ich füge hier noch den Ausfall des Tierversuchs an:

Maus a erhält 1 ccm der Lösung: Hervortreten der Augen, Augenthränen, Speichelfluss, Schweif hoch, Krämpfe, die die Maus vom Tische werfen, krampfartige Auf- und Niederbewegungen des Kopfs, Zusammenziehungen der Bauchmuskeln; Tod nach 9 Minuten.

Maus b bekommt 0,1 ccm: Aehnliche Erscheinungen wie bei Tier a, jedoch weniger heftig; öftere Defäkation. Bleibt leben. Drei Tage danach mit Milzbrand geimpft; sie stirbt nach 22 Stunden, 10 Stunden früher wie die Kontrollmaus.

Maus c: 0,01 ccm; am folgenden Tage Impfung mit einem Milzbrandsporenseidenfaden (Kontrollmaus starb nach 27 Stunden) Schwellung in der Umgebung der Impfstelle; 5 Tage später nochmalige Einspritzung derselben Dosis; die Schwellung an der Impfstelle geht in den nächsten Tagen zurück; 9 Tage später wiederum Impfung mit Milzbrand; der das Tier nach 37 Stunden erliegt (Kontrollmaus starb nach 22 Stunden).

Maus d: 0,005 ccm; am folgenden Tage Impfung zugleich mit Tier c und der Kontrollmaus; auch diese Maus bekommt an der Impfstelle Schwellung, starb aber 4 Tage nach der Impfung.

Ich enthalte mich, aus diesen wenigen Versuchen Schlüsse zu ziehen. Zu einer Weiterführung fehlte es zunächst an Material und später an Zeit. Man hat, seitdem die Aufmerksamkeit der Forscher sich den giftigen und immunisierenden eiweissähnlichen Körpern zugewendet hat, das weniger aussichtsvoll scheinende Studium der Alkaloide und ähnlicher Substanzen mehr und mehr aufgegeben, ob mit Grund, wird die Zukunft wohl noch zeigen.

Gewinnung von hitzeempfindlichen Bakteriengiften.

Viele von ihnen zersetzen sich schon bei wenig über Körperwärme gelegnen Graden oder werden wenigstens unwirksam. Da nun die Flüssigkeiten, worin wir sie suchen, in der Regel eingeengt werden müssen, so ist ganz besondre Vorsicht in der Anwendung von Wärme geboten und wir sind gezwungen, die Abdampfung im luftverdünnten Raume in den sog. Vakuumdestillierapparaten (S. 222) vorzunehmen.

Schon gleich zu Beginn der Untersuchungen fällt jene Empfindlichkeit sehr ins Gewicht. Denn wollen wir die ausgeschiednen Stoffe getrennt von den Bakterien erhalten, so müssen wir vor allem für die **Entfernung der Bakterien** aus der Flüssigkeit sorgen.

Im Notfalle kann man bei sporenfreien, wenig widerstandsfähigen Bakterien wagen, das Ziel durch Einwirkung von Wärmegraden nicht über 50° auf nicht zu grosse Mengen der Flüssigkeit (um die Eindringungsdauer der Hitze nicht zu sehr zu verlängern) zu erreichen.

Diesem eingreifenden Vorgehen gegenüber steht das schonendste in Gestalt der Abheberung der über dem Kulturbodensatz stehenden klaren Flüssigkeit; selbstverständlich kann eine solche nur bei gewissen unbeweglichen Bakterien unter den allergenausten Vorsichtsmassregeln geschehen, um einerseits nichts von dem Bodensatz aufzurütteln, andrerseits jedwelche Verunreinigung von aussen hintanzuhalten, umsomehr als die abgeheberte Flüssigkeit in sterilen Gläsern nochmals stehen gelassen und wiederholt diesem Verfahren unterworfen werden muss, um jedwelche Beimengung lebender Keime auszuschliessen (Arloing Cr. 13. 561).

Am sichersten und am meisten gebräuchlich ist jedenfalls die Filtrierung durch Kerzen von Thon oder Kieselgur, wobei man den Verlust eines Teiles der gelösten Stoffe, wie er durch die Art der Filter immer bedingt ist, eben mit in den Kauf nehmen muss.

Ehe man weitergeht, ist die auf die eine oder die andre Weise gewonnene Flüssigkeit durch Aussaat auf geeignete Nährboden hinsichtlich ihrer völligen Keimfreiheit zu prüfen.

Alsdann kann man zur **Ausfällung der Toxalbumine** schreiten, die sich auf verschiedne Weise erzielen lässt, entweder durch Aussalzen oder durch Niederschlagen mit Alkohol.

Was das **Aussalzen** betrifft, so eignet sich nach Méhu*) zur Ausfällung das schwefelsaure Ammonium. Zur fraktionierten Fällung von Eiweisstoffen wurde es zuerst von Hofmeister**) verwendet. Um die Bakteriengifte auszufällen, erwärmt man die zu untersuchende filtrierte Flüssigkeit auf 30° und übersättigt mit diesem Salz, das demnächst aus dem Niederschlage durch Dialyse entfernt werden muss.

Die **Dialyse**, von Graham in die Wissenschaft eingeführt, kann entweder im fliessenden oder im stehenden Wasser vorgenommen werden (S. 226). Im letztern Falle muss die Wassermenge mindestens viermal so gross sein, wie die auf der Membran stehende Flüssigkeit, deren Schichte nicht höher als äusserstens 1 ½ cm sein darf. Ist völlig keimfreies Arbeiten erforderlich, so müssen zuvor beide Gefässe samt dem Wasser im Dampfe sterilisiert und dann mit einer Glasglocke bedeckt werden (Buchner C. 6. 562). Die Dialyse wird so lange fortgesetzt, bis auch die letzten Spuren der krystallisierbaren Substanz ins Wasser übergegangen sind. Man prüft dazu die auf der Membran befindliche Flüssigkeit tropfenweise durch Tüpfelreaktion mit Bariumchlorid auf einer schwarzen Glasplatte. Bildet sich kein weisser Niederschlag von schwefelsauerm Baryt mehr, so kann man die Flüssigkeit von der Membran abgiessen, um sie im Vakuum bei nicht mehr als 40° abzudampfen. Der darauf bleibende Niederschlag, der getrocknet wird, enthält die etwa vorhandnen Gifte.

Roux und Yersin hielten den Calciumphosphatniederschlag bei ihren Untersuchungen über das Diphtheriegift als am geeignetsten, da er am leichtesten die aktive Substanz mit sich zu Boden reisst. Die beiden Forscher erzeugten ihn durch Zusatz von Calciumchlorid zur filtrierten Bouillonkultur und empfahlen die fraktionierte Präzipitation (P. 3. 284). Unter beständigem Umschütteln wird Tropfen für Tropfen einer Calciumchloridlösung zugesetzt, jedoch nur soviel, dass die zugegebne Menge der Lösung unzureichend ist, um eine vollkommene Ausfällung zu bewirken. Die geklärte Flüssigkeit wird vom entstandnen Bodensatze abgegossen, ein zweiter Niederschlag erzielt, dann noch in ähnlicher Weise ein dritter, stets unter Vermeidung zufälliger Verunreinigung von aussen. Der erste Niederschlag schliesst neben dem Diphtheriegifte gewisse, in der zur Kultur verwendeten Bouillon vorhandne Stoffe ein, die folgenden Niederschläge enthalten das Gift reiner und erweisen sich beim Tierversuch wirksamer. Sind die Nieder-

---

*) Journal de pharm. et de chimie. Août 1878.

**) Kauder, Zur Kenntnis der Eiweisskörper des Blutserums; Arch. f. exper. Pathologie und Pharmakologie. 1886. S. 411.

schläge im Vakuum getrocknet, so bewahren sie ihre aktiven Eigenschaften längere Zeit, als im feuchten Zustande (s. a. Buchner M. 93. 451).

Die Umständlichkeit, die dem Verfahren des Aussalzens anhängt, und die Schwierigkeit der Vermeidung von Verunreinigungen liessen es Brieger und C. Fränkel bei ihren Untersuchungen über Bakteriengifte (B. 90. 241) vorteilhafter erscheinen, sich der **Ausfällung mit Alkohol** zu bedienen.

Zu dem Ende wird das Filtrat bei genau 30° auf ein Drittel seines Volums im Vakuum eingedampft, sodann in die etwa zehnfache Menge absoluten, mit Essigsäure schwach angesäuerten Alkohols eingetragen. Entsteht dabei keine ordentliche Fällung, so versuche man es mit Aetherspiritus (1 : 3 Tl.). Diese Eintragung erfolgt am besten tropfenweise, etwa unter Zuhilfenahme eines am Stativ befestigten Scheidetrichters, dessen Hahnstellung entsprechend geregelt ist. Im gegebnen Falle wird sich alsbald der Alkohol mehr oder weniger trüben, opaleszierend werden, und vielleicht auch schon ein krümliger Niederschlag erscheinen. Dieser vermehrt sich wesentlich, wenn man ihm 12—24 Stunden Zeit zum Absetzen gibt, was an einem dunkeln Ort im Zimmer zu geschehen hat. [Im Eisschrank stehen zu lassen, scheint sich nicht zu empfehlen, wenigstens konnten Behring und seine Mitarbeiter darin (bei + 2°) eine beträchtliche Abschwächung virulenter Diphtheriekulturen wahrnehmen; D. 93. 417]. Danach wird filtriert, der Filterrückstand mit wenig Wasser aufgenommen, von neuem filtriert, abermals mit Alkohol gefällt und dieses Verfahren mehrfach wiederholt, bis die wässrige Lösung ein ganz klares Aussehen zeigt.

Schon jetzt kann man die Lösung durch Einspritzung abgemessner Mengen in den Tierkörper auf ihre Giftigkeit prüfen. Demnächst aber beendigt man die Darstellung und trocknet im Vakuum bei 40°, wonach eine amorphe, krümlige, sehr leichte, weisse oder grauweisse Masse zurückzubleiben pflegt.

Bei genügendem Vorrat wird deren Löslichkeit in Wasser, in verdünnten oder konzentrierten Säuren (die Giftigkeit geht dabei meist verloren, kann jedoch durch Neutralisierung wenigstens teilweise wiedergewonnen werden) u. s. w. festgestellt und ihr Verhalten gegenüber den S. 230 angegebnen Reagentien geprüft.

Sollen solche giftige Stoffe aus Organen des erkrankten menschlichen oder tierischen Körpers gewonnen werden, so zerkleinert man sie mit der Fleischhackmaschine und laugt sie mit Wasser oder mit dem gleichen Volum einer Lösung aus, die auf 40 g Glyzerin 60 ccm physiologischer Kochsalzlösung enthält. Letztere benützten Brieger und Wassermann zur Darstellung aus Milz, Leber und Nieren einer Typhusleiche, filtrierten nach 24 Stunden die Organreste mit dem gewöhnlichen Filter und dieses Filtrat durch Kieselgurkerzen. Dann wurde mit Alkohol gefällt, der Niederschlag nochmals in Wasser gelöst, vom Unlöslichen abfiltriert und mit 70gradigem Alkohol versetzt. Die nunmehr ausfallenden Substanzen wurden abfiltriert, auf ausgeglühte Thonplatten gestrichen und im Vakuum getrocknet. 0,1 g davon in 1 ccm Wasser gelöst, tötete Meerschweinchen bei Einspritzung in die Bauchhöhle nach drei Tagen unter besondern Erscheinungen.

Aus dem Blut einer Diphtherieleiche liessen die genannten Forscher erst das Serum sich abscheiden, filtrierten dann durch Kieselgurcylinder und verarbeiteten es, nachdem sich Proben davon bei den empfänglichen Meerschweinchen giftig erwiesen hatten (bezeichnende Lähmung der Gliedmassen, Tod), nach der vorhin beschriebnen Methode von Brieger und C. Fränkel.

Wichtig ist bei derartigen Massnahmen, dass das betreffende Individuum auf der Höhe der Krankheit gestorben ist, und dass es sich um einen reinen, von Komplikationen freien Krankheitsfall handelt. Weiterhin ist unumgänglich erforderlich, dass die Leichenöffnung so früh als möglich vor sich geht, so lange Blut und Organe noch ganz frisch sind, da die leicht zersetzlichen Toxalbumine durch die nach dem Tode sich bald einstellenden Verwesungsvorgänge zerstört werden.

Auch in dem eiweiss- und bluthaltigen Harn einer Rotlaufkranken gelang es Brieger und Wassermann, Gifte nachzuweisen. Die Urinmenge von 800 ccm wurde in Alkohol eingetragen, der Niederschlag in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und zur Entfernung der Salze 12 Stunden lang dialysiert. Die dialysierte Flüssigkeit wurde auf das ursprüngliche Volum von 800 ccm gebracht: ½ ccm genügte, um Mäuse innerhalb 2 Stunden, 2 ccm, um Meerschweinchen unter soporösen Erscheinungen nach 2 Tagen zu töten. Später, zur Genesungszeit untersuchter Urin war giftfrei (Charité-Annalen 27. 822).

Die angegebnen Verfahren mögen zeigen, wie die Ermittlung derartiger Gifte mit Vorteil geschehen kann; dass sie immer so geschehen muss, ist nicht gesagt.

So hat z. B. Löffler aus Diphtheriekulturen auf Fleischbrei ein für Meerschweinchen bei Einführung in die Bauchhöhle tödliches, unter die Haut beigebracht, zu Nekrose führendes Gift folgendermassen dargestellt: 4—5 Tage alte Kulturen wurden reichlich mit Glyzerin übergossen, geschüttelt und 24 Stunden im Brutschranke belassen; der Glyzerinauszug wurde mit der fünffachen Menge absoluten Alkohols gefällt, der Niederschlag nach 24 Stunden abfiltriert, mit Alkohol ausgewaschen, unter Vermeidung höherer Wärmegrade getrocknet und in wenig Wasser aufgenommen; die Lösung wieder mit Alkohol versetzt unter gleichzeitiger Durchleitung von Kohlensäure, der weisse Niederschlag abermals abfiltriert, getrocknet und in Wasser gelöst (D. 90. 109).

Ebenfalls ohne Filtration durch Thon u. dgl. gewann Scholl aus Cholerakulturen in Hühnereiern ein „Toxopepton“:

Das von den Bakterien verflüssigte Eiweiss wurde in die zehnfache Menge absoluten Alkohols eingegossen, der Niederschlag mit Alkohol ausgewaschen, mit Wasser digeriert und filtriert. Die wässrige Lösung wurde wiederholt in mit Essigsäure schwach angesäuerten Aetherspiritus eingetragen, vom Rückstand abgegossen und dieser in alkalisch gemachtem Wasser aufgelöst. Letztmalige Eintragung in reinen Aether, der verdampft wurde, führte zur Gewinnung einer weissen voluminösen Masse, wovon geringe Mengen in die Bauchhöhle einverleibt, Meerschweinchen binnen kurzem töteten (B. 90. 934).

Diese und ähnliche Stoffe (Toxalbumine) entstammen, wie eingangs erwähnt, jedenfalls dem Zellleibe der Bakterien. Sie werden gleichzeitig mit andern, in der Kultur- oder Gewebeflüssigkeit befind-

lichen eiweissartigen Stoffen durch die angewandten Reagentien ausgefällt und sind darum im Niederschlage nicht chemisch an diese Stoffe gebunden, sondern nur vermischt mit ihnen zu denken, eine Ansicht, die früher schon von Wassermann und Proskauer (D. 91. 585) ausgesprochen wurde.

Gewinnung des plasmatischen Zellinhalts der Bakterien.

Bei den Versuchen, dem Zellleibe der Bakterien selbst wirksame Stoffe zu entziehen, schlug man verschiedne Wege ein und traf dabei einerseits auf hitzebeständige Stoffe mit gewissen, besondern Wirkungen gegenüber dem menschlichen und tierischen, namentlich dem von Krankheitserregern befallnen Körper, andrerseits auf Gifte, die sich gegen chemische und physikalische Einflüsse weit empfindlicher erwiesen.

Die Darstellung der **hitzebeständigen** sog. **Proteïne** nach Nencki beschrieb Buchner (B. 90. 1084), den Bac. pyocyaneus als Beispiel wählend, folgendermassen:

Von einer grossen Zahl, bei Zimmerwärme gewachsner Kartoffelkulturen wird die Bakterienmasse vorsichtig abgestreift und in einer Reibschale mit etwas Wasser gleichmässig verrieben. Bei Zusatz von 0,5%iger Kalilauge — etwa in der 50fachen Menge des feuchten Bakterienbreis — quillt schon in der Kälte die Masse zu einem zähen Schleim, der bei nachfolgender Digestion im Wasserbade sich rasch verflüssigt. Nach einigen Stunden ist der grösste Teil der Bakterienmasse gelöst; beim Filtrieren durch mehrere kleine Filter (die ersten Portionen müssen nochmal aufgegossen werden) erhält man binnen 24 Stunden ein klares grünliches Filtrat (Pyocyanin), das bei vorsichtigem Zusatz von verdünnter Essig- oder Salzsäure bis zu eben deutlicher saurer Reaktion — ein Ueberschuss ist zu vermeiden — einen voluminösen Niederschlag von Pyocyaneusproteïn liefert. Dieses wird auf einem Filter ausgewaschen, in wenig Wasser fein verteilt und unter Zusatz einiger Tropfen Sodalösung bis zur schwach alkalischen Reaktion aufgelöst. Die etwa 10%ige Lösung besitzt dunkelbraune Farbe und zeigt Neigung, in der Kälte zu gelatinieren. Sie gibt die Eiweissreaktionen.

Diese durch Aufschliessung mit Kalilauge gewonnenen Körper, die durch Zusatz von wenig Säure gefällt werden, belegte Buchner mit dem Namen Alkaliproteïne zum Unterschiede von den beim schwachen Ansäuern nicht fällbaren, auf nachstehende Weise gewonnenen, gereinigten Proteïnen:

Vor der Anreibung mit Wasser wird die feuchte Bakterienmasse einer „scharfen Trocknung“ unterworfen, indem die vom festen Nährboden vorsichtig abgestreifte Bakterienmasse in flachen Schalen in ganz dünner Schicht ausgebreitet und bei erhöhter Temperatur rasch angetrocknet wird. Hierauf Anfeuchtung mit Wasser und Verreibung der wiedererweichten Masse mit dem zehnfachen Gewicht der ursprünglichen Menge Wassers. Die Verreibung wird entweder auf dem Sandbad mit Rückflusskühler 1 Stunde lang gekocht, oder, was mehr Extrakt liefert, 1½ Stunden und länger im Autoklaven dem gespannten Dampfe von 120° ausgesetzt, endlich durch Kieselgur filtriert (Buchner und seine Mitarbeiter M. 91. 841).

R. Koch stellte das **Tuberkulin** aus Kulturen von Tuberkelbazillen in nachstehender Weise dar:

Eine Nährbouillon aus Kalbfleischaufguss oder 1%iger Fleischextraktlösung, mit 1% Pepton und 4—5% Glyzerin versetzt, von schwach alkalischer Reaktion, wird zu je 30—50 ccm in Kölbchen mit flachem Boden gefüllt und derart geimpft, dass ein nicht zu kleines Stück der zur Aussaat benützten Tuberkelbazillenkultur auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmt. Im Brutschranke bei 38° überlässt man dann die Kultur sich selbst, bis nach 6—8 Wochen die an der Oberfläche gewachsne Haut untergesunken ist. Die durch die mikroskopische Untersuchung völlig rein befundnen Kulturen werden in einem geeigneten Gefässe auf dem Wasserbade bis zum zehnten Teile ihres ursprünglichen Volumens eingedampft. Da sie hiebei stundenlang einer Wärme von nahezu 100° ausgesetzt bleiben, so kann man mit voller Sicherheit darauf rechnen, dass in der eingedickten Flüssigkeit die Tuberkelbazillen ausnahmslos abgetötet sind. Um sie aber möglichst daraus zu entfernen, wird die Flüssigkeit durch ein Thon- oder Kieselgurfilter filtriert. (Zur Züchtung kann statt Bouillon auch Glyzerinagar verwendet werden, er liefert aber wegen der Beschränktheit der Oberfläche eine zu geringe Ernte.)

Bevor das Tuberkulin angewendet wird, muss es auf seine Stärke geprüft werden, indem eine grössere Reihe von tuberkulösen Meerschweinchen, die sich alle möglichst in demselben Stadium der (künstlich erzeugten) Krankheit befinden sollen, abgestufte Dosen davon eingespritzt bekommt. Wenn man für jede Dosis mindestens zwei Tiere nimmt und die Gaben genügend abstuft, so lässt sich die Stärke des Tuberkulins mit hinreichender Genauigkeit ermitteln.

Durch vorsichtige Ausfällung mit 60% Alkohol kann man das „Rohtuberkulin“ reinigen, so dass es für Meerschweinchen eine etwa 50-, für Menschen eine etwa 40mal stärkere Wirkung hat, doch hat sich für die Praxis dadurch kein wesentlicher Fortschritt ergeben (D. 91. 1192).

Klebs versuchte ein durch verschiedne Manipulationen, namentlich von Alkaloiden möglichst gereinigtes Tuberkulin herzustellen, ein Produkt, das er mit dem Namen Tuberkulocidin belegte (D. 91. 1233).

Die merkwürdige Wirkung des Tuberkulins im tuberkulös erkrankten Körper, die übrigens auch andern Proteïnen zukommt (Römer, B. 91. 1189), hat mancherlei theoretische Erwägungen veranlasst, worauf hier nicht näher eingegangen werden kann. Dass dem Tuberkulin aber besondre Wirkungen zukommen müssen, die den Proteïnen andrer Bakterien fehlen, dafür spricht der interessante wiederholt bestätigte Befund der Amerikaner Prudden und Hodenpyl (H. 2. 7), demzufolge abgetötete Tuberkelbazillen, durch die Ohrvene in die Blutbahn eingeführt, in Lunge und Leber an der Wand der Haargefässe haften bleiben und nach einiger Zeit in deren Endothel die Bildung von Knötchen hervorrufen, die mit miliaren Tuberkeln schlagende Aehnlichkeit haben. Hier will ich nur der den Proteïnen gemeinsamen Eigenschaft gedenken, die darin besteht, lymphtreibend zu wirken (Gärtner und Römer), weisse Blutkörperchen anzulocken und Entzündungserscheinungen hervorzurufen, wie Buchner (B. 90. 216) unter anderm an seinem eignen Körper bewies.

Unter

Chemotaxis

versteht man die Fähigkeit verschiedner chemisch gelöster Stoffe, kleine Organismen fernwirkend derart zu beeinflussen, dass sie sich zu ihnen hin oder von ihnen weg bewegen. Eine Anziehung kann z. B. durch die Bakterienproteïne im Körper gegenüber den Leukocyten sich geltend machen, andrerseits aber enthalten die Leukocyten ihrerseits Stoffe, die auf lebende Bakterien „chemotaktisch“ wirken. (Diese Anlockung kleinster Organismen wird auch seitens gewisser körperlicher Elemente wahrgenommen, so sah man Leukocyten in Holundermarkstückchen hineinkriechen; es handelt sich dabei um eine Fremdkörperwirkung, um die sog. taktile Reizbarkeit der Leukocyten, die von der Chemotaxis unterschieden werden muss.) Die Chemotaxis kann sich, wie angedeutet, sowohl im positiven als im negativen Sinne geltend machen, d. h. es lässt sich beobachten, dass — sagen wir die Leukocyten vor gewissen chemischen Stoffen fliehen, von ihnen förmlich abgestossen werden: negative Chemotaxis, oder dass sie in mehr oder minder grossen Mengen auf sie zuwandern, angezogen werden: positive Chemotaxis; der neutrale Fall heisst dann: indifferente Chemotaxis. Diese Bezeichnungen stammen von Pfeffer, der die ersten diesbezüglichen wissenschaftlichen Beobachtungen und Untersuchungen machte, die demnächst von Leber, dann von Massart, Bordet, Gabritschewsky u. a. weiter verfolgt wurden, namentlich auch von Buchner, der auf Grund dieser Thatsache eine Reihe wichtiger Momente zur Klärung der Vorgänge bei der Entzündung und ihrer Rolle bei Infektionskrankheiten beibrachte.

Die Leukocytenanlockung im Körper durch Proteïne der Bakterien kann nach Buchner sehr schön gezeigt werden mit derselben Methode, wie sie Pfeffer bei seinen Untersuchungen in Flüssigkeiten anwandte. Die gelösten Proteïne werden in spindelförmige, einige Millimeter weite Glasröhrchen eingeschmolzen, die verschlossnen Röhrchen durch Kochen sterilisiert, unter aseptischen Vorsichtsmassregeln unter die Rückenhaut von Kaninchen eingeschoben und danach unter der Haut an den Spitzen abgebrochen. 2—3 Tage später finden sich in den freien Enden der abgebrochnen Röhrchen mehrere Millimeter starke Pfropfen aus faserstoffigem Eiter.

Eine positive Chemotaxis auf Leukocyten stellte Buchner auch seitens der Eiweissstoffe höherer Pflanzen, z. B. beim Glutenkaseïn, Legumin etc. fest, ferner bei den aus Muskelfleisch oder Tierorganen gewonnenen Alkalialbuminaten (B. 90. 1084).

Eine vortreffliche Abhandlung über Chemotaxis schrieb Weigert (H. 1. 588), die eine zusammenfassende Uebersicht über den Stand dieser Frage bietet.

Die Darstellung **giftiger,** gegen physikalische und chemische Einflüsse, namentlich **gegen Hitze empfindlicher Stoffe** gelang R. Pfeiffer (Z. 11. 393) aus dem Choleravibrionen, die sich durch Mittel, wie Chloroform, Thymol, oder durch Austrocknung unschwer töten lassen (am geeignetsten erwies sich wegen seiner Entfernbarkeit durch Verdunstung das Chloroform, Trocknung war weniger schonend).

Frische, höchstens 18 Stunden alte, bei Körperwärme gewachsne Agaroberflächenkulturen wurden mit einem Spatel abgestreift, 2 bis 3 Platinösen der Ernte (= 3—4,5 mgr) mit 1 oder 2 ccm Bouillon verrieben, dazu einige Tropfen Chloroform gesetzt, eine Minute geschüttelt und nach der Absetzung des Chloroforms die überstehende Bouillon in ein offnes, steriles Schälchen abgegossen, woraus der letzte Rest des Chloroforms rasch verdunsten konnte. Plattenaussaaten ergaben das Abgestorbensein der Vibrionen. Die tödliche Dosis der also behandelten Kultur lag zwischen 2—3 Oesen für ein mittleres Meerschweinchen von 300 g Gewicht (lebende Cholerakulturen wirkten schon bei 1 Oese auf ein 400 g schweres Tier tödlich). Derartige Gifte kommen nicht bloss in Choleravibrionen, sondern auch in andern Bakterien vor (s. Cholera; Tierversuch).

Das offenbar in den Bakterienzellen enthaltne Gift wurde als das primäre bezeichnet, im Gegensatz zu dem erst in der 10—20fachen Gabe wirkenden sekundären, das nach Zerstörung des primären Giftstoffs zurückbleibt, wenn die Kulturen durch Alkohol, konzentrierte Lösung eines Neutralsalzes, oder durch Siedehitze behandelt werden.

Nach Brieger, Kitasato und Wassermann sollen in Cholerabakterien ausser den giftigen noch gewisse besondre, schutzverleihende Stoffe enthalten sein, deren Wirkungen nach Ausschaltung der Gifte zu Tage träten, und die gleichfalls bei Erhitzung auf 100° verschwänden. Die Abschwächung und Ausschaltung der giftigen Stoffe würde ihrer Ansicht nach durch ein eigentümliches Verfahren erreicht, nämlich durch die Züchtung auf oder durch die Vermischung der gewachsnen Kultur mit einem Auszug aus der Thymusdrüse oder aus ähnlichen zellen- und blutreichen Organen von hohem Phosphorgehalte, endlich durch nachfolgende vorsichtige Erwärmung. Das gelänge in gleicher Weise bei den Choleravibrionen, wie bei verschiednen andern Bakterien, den Typhus-, Schweinerotlauf-, Tetanus-, Diphtheriebazillen u. s. w. Inwieweit das überhaupt oder in seiner Allgemeinheit richtig ist, lässt sich mit Bestimmtheit noch nicht entscheiden, hinsichtlich der Tetanus- und Diphtheriebazillen aber hat Behring bereits bewiesen (G. d. D. 154 u. 177)*), dass die Voraussetzung eine irrige ist, da sich die beabsichtigte Wirkung durch die Erwärmung allein schon erzielen lässt, genau so, wie es C. Fraenkel gelang, durch Erwärmung auf 65° schutzverleihende Stoffe aus den Diphtheriekulturen zu erhalten.

Es bleibt somit sehr dahingestellt, ob Thymusdrüsen- und ähnliche Auszüge, die schon Wooldridge vor mehreren Jahren zum gleichen Zwecke bei Milzbrandbazillen verwendete, irgend einen Vorteil gewähren. Immerhin will ich nicht unterlassen, die Herstellung eines solchen Auszugs nach Brieger, Kitasato und Wassermann (Z. 12. 146) vorzutragen.

Zwei bis drei Thymusdrüsen werden sofort nach der Entnahme aus dem Schlachttiere ins Laboratorium verbracht und mit der Fleischhackmaschine fein zerkleinert. Die fein zerhackte Masse kommt, mit gleichen Teilen destillierten Wassers verrührt, für etwa 12 Stunden in den Eisschrank; dann wird durch Gaze

---

*) Die Geschichte der Diphtherie mit besondrer Berücksichtigung der Immunitätslehre. Leipzig bei G. Thieme 1893.

koliert, wobei der Organbrei durch die Fleischpresse ausgedrückt wird. Um bei der nachfolgenden Sterilisierung im Dampf ein Ausfallen der gelösten Thymusbestandteile zu vermeiden, muss Soda bis zur schwachen Bläuung von Lakmuspapier zugesetzt, gleichzeitig aber auch mit Wasser verdünnt werden (die notwendige Menge von Soda und Wasser, die zur Verhütung von Gerinnung dienen soll, ist erst sorgfältig im Reagensglase zu ermitteln). Dann wird der Kolben 15 Minuten lang im Dampftopfe bei 100° gehalten; der Inhalt nimmt eine graubraune Farbe an; etwaige, trotz der Vorsichtsmassregeln ausgefallne gröbere Flocken werden nach dem Erkalten mittels Seihung durch feines Leinen entfernt. Die nunmehr erhaltne milchig opaleszierende Flüssigkeit wird in Reagensgläser abgefüllt und nochmals sterilisiert.

In ähnlicher Weise kann man Auszüge aus Fischsperma oder Gekrösdrüsen vom Rinde verarbeiten.

Prüfung der Pathogenität; Abschwächung und Steigerung der Virulenz von Bakterien.

Um eine Bakterienart als die Ursache einer bestimmten Krankheit ansehen zu können, müssen nach R. Koch folgende drei Bedingungen erfüllt sein:

1. Der Parasit muss in jedem einzelnen Falle der betreffenden Krankheit vorhanden sein, und zwar unter Verhältnissen, die den pathologischen Veränderungen und dem klinischen Verlaufe der Krankheit entsprechen.

2. Er darf bei keiner andern Krankheit als zufälliger und nicht pathogener Schmarotzer vorkommen.

3. Er soll vom Körper vollkommen isoliert und in Reinkulturen hinreichend oft umgezüchtet, imstande sein, von neuem die Krankheit zu erzeugen.

Dieser dritte Punkt kann natürlich nur dann erfüllt werden, wenn die fragliche Krankheit überhaupt auf ein Tier übertragbar ist. Ist das — wie verschiedentlich der Fall — nicht möglich, sind aber die beiden ersten Forderungen der Beweisführung erfüllt (Nachweis des regelmässigen und ausschliesslichen Vorkommens des Parasiten), so ist dem Beweise des ursächlichen Zusammenhangs zwischen Parasit und Krankheit Genüge geleistet*).

Jedes bei Körperwärme fortkommende Kleinwesen, das wir in oder ausserhalb des Körpers gefunden haben und getrennt von andern näher erforschen wollen, muss auf seine krankmachenden Eigenschaften mit dem Tierversuche geprüft werden. Dabei ist wohl darauf zu achten, ob schon geringe Mengen genügen, um Krankheit oder den Tod herbeizuführen, oder ob dazu grosse Gaben erforderlich sind. Bei der Leichenöffnung ist festzustellen, ob das Kleinwesen im Körper nur örtlich oder allgemein zur Entwicklung gekommen ist oder überhaupt nicht.

Arten, die auf den menschlichen oder tierischen Körper in klein-

---

*) Verhandlungen des X. internat. medic. Kongress. Berlin bei A. Hirschwald. Bd. 1. S. 40.

sten oder grössern Gaben übertragen, krankmachende oder tödliche Wirkung entfalten, heissen krankheitserregende, pathogene.

Eine krankheitserregende Bakterienart kann pathogen sein, teils durch ansteckende, infektiöse, theils durch giftige, toxische Wirkung, und ist es meist durch beide zugleich.

Die giftige Wirkung ist allen Krankheitserregern in mehr oder minder hohem Masse eigen. Wenn es auch nicht selten scheinen könnte, als wäre die Ursache der während des Lebens beobachteten Gesundheitstörungen oder des Todes lediglich in der massenhaften Vermehrung der Bakterienzellen im Gewebe zu suchen, also mechanisch zu erklären, wie beim Milzbrand, der Septikämie u. dgl., so dürfen wir daneben die Wirkung des Inhalts der Bakterienzellen und ihrer giftigen Umsetzungsprodukte keinesfalls ausser acht lassen. Am ausgesprochensten ist die giftige Wirkung bei solchen Bakterien, die sich lediglich am Orte der Einbringung vermehren, ohne selbst weiter in den übrigen Körper einzuwandern, trotzdem aber durch die von ihnen gebildeten äusserst verderblichen Gifte die schwersten Zufälle hervorrufen, wie das bei den Cholera-, Tetanus- und Diphtheriebazillen bekannt ist, die gar nicht oder nur selten in den Geweben ausser der Infektionsstelle nachzuweisen sind.

Die Grösse der krankheitserregenden Eigenschaft, nach der toxischen, wie nach der infektiösen Seite hin, bezeichnet man auch als **Virulenz.**

Die Virulenz ein und derselben Bakterienart, ist nicht immer die gleiche. Sie ist von gewissen, noch nicht näher bekannten Verhältnissen abhängig, und nimmt — bei einigen rascher, bei andern langsamer — nach fortgesetzter Züchtung auf unsern künstlichen Nährboden stets ab und auch unter den natürlichen, gegebnen Verhältnissen scheint eine derartige Abnahme vorzukommen.

Zur **Abschwächung der Virulenz** unsrer künstlich fortgezüchteten Laboratoriumskulturen trägt neben den den Bakterien aufgezwungnen Nahrungstoffen und ausser ihren eignen Stoffwechselprodukten, der Zutritt des Sauerstoffs der Luft, wie er durch die Wattestopfen der Reagensgläser hinreichend ermöglicht ist, in mehr oder minder grossem Masse bei (von Pasteur zuerst bei den Hühnercholerabakterien beobachtet). Denn unter Luftabschluss, etwa in zugeschmolznen Reagens- oder Haarröhrchen aufbewahrte Kulturen bewahren in der Regel länger ihre Virulenz.

Eine absichtlich herbeigeführte, künstliche Abschwächung der Virulenz durch den Sauerstoff der Luft gelang zuerst Buchner bei der Züchtung der Milzbrandbazillen in einer Nährlösung, die durch eine Schüttelvorrichtung beständig durchlüftet wurde.

Verschiednerlei Abschwächungsversuche wurden vielfach angestellt, um für Schutzimpfungen verwendbare Kulturen zu erhalten, nach deren Einverleibung eine leichtere Erkrankung entsteht, die den Körper, wenn er sie überwindet, gegen die Impfung mit hochvirulenten Bakterien mehr oder weniger unempfänglich macht.

So gelang es durch höhere Wärmegrade eine Abschwächung der Virulenz zu erzielen, und zwar um so sichrer, je länger die Wärme wirkte. Pasteur hatte dadurch, dass er Milzbrandbakterien 24 Tage

zwischen 42—43° züchtete, ein sog. I. vaccin, und durch 12tägige Züchtung unter denselben Verhältnissen das stärkre II. vaccin*) erhalten. Nacheinander eingespritzt, verliehen sie Tieren gegen eine subcutane Impfung mit virulentem Milzbrand Schutz, nicht aber gegen Fütterungsmilzbrand, wie Koch und seine Schüler später bewiesen. Nach Koch, Gaffky und Löffler waren bei 42°,5 C. 3—4 Wochen nötig, um in neutralisierter Hühnerbouillon gezüchtete Milzbrandkulturen völlig abzuschwächen, bei 43° genügten schon wenige Tage, bei 47° einige Stunden, bei 50—53° bereits Minuten. Je niedriger also die angewendeten Wärmegrade waren, desto langsamer ging die Abschwächung von statten, aber desto sichrer konnte man auch sein, sie nicht nur bei der augenblicklich zu Gebote stehenden Kultur zu haben, sondern diesen Stempel gleichzeitig auch allen folgenden, von dieser Kultur weitergezüchteten Generationen aufgedrückt zu haben. Bis zu 9 Tagen bei 42° gezüchteter Milzbrand lieferte Kulturen, die bereits Kaninchen nicht mehr töteten, und zwischen dem 10. und 24. Tage des Aufenthaltes der Bazillen bei 42° liessen sich solche Abschwächungsgrade erhalten, dass ausser den Kaninchen auch damit geimpfte Meerschweinchen am Leben blieben, selbst kaum mehr krank wurden; nur Mäuse erlagen noch der Impfung mit diesem sog. „Mäusemilzbrand". Nach längerer Zeit verloren die im D'Arsonvalschen Brutschrank aufbewahrten Kulturen schliesslich auch ihre Wirksamkeit den Mäusen gegenüber (K. M. 2. 147).

Abschwächungen der Milzbrandbazillen erzielten Arloing durch dreistündige Einwirkung des Sonnenlichtes, Chauveau durch Anwendung vermehrten Druckes unter Sauerstoffzufuhr und D'Arsonval mit komprimierter Kohlensäure (Cr. 7. 677 und 9. 831).

Das gleiche Ziel liess sich auch durch Zusatz von Chemikalien, wie Kaliumbichromat (1 : 2000—5000), verdünnte (2%ige) Schwefelsäure, Phenol (1 : 600) u. s. w. zu den Kulturmitteln beim Milzbrandbazillus erreichen, jedoch gelang es dabei nicht, wie bei Anwendung höherer Wärmegrade, Abschwächungszustände zu bekommen, die sich bei den Weiterzüchtungen bewahrten.

Noch unsicherere Erfolge ergaben Versuche der Abschwächung mit Uebertragung auf weniger empfängliche Tiere, wie jene Pasteurs, als er die Schweinerotlaufbazillen im Kaninchenkörper abschwächen wollte. Bei Milzbrandbazillen will man das gleiche im Froschkörper beobachtet haben; eine nur einigermassen dauernde Herabsetzung der Virulenz gelingt dadurch nicht; denn macht man, wie Lubarsch**) zeigte, von den Organen des Milzbrandfrosches Aussaaten und überträgt von der erhaltnen Kultur auf empfängliche Tiere, so kann man keinen Virulenzverlust beobachten; ja sogar eine Steigerung der Virulenz soll sich nach der Durchschickung der Milzbrandbazillen durch unempfängliche Tiere bemerklich gemacht haben (Tsiklinski P. 6. 465). Auch virulente Streptokokken werden nach

*) Von französischen Schriftstellern wird das Wort vaccin, wie von deutschen öfters der Ausdruck Lymphe zur allgemeinen Bezeichnung von Schutzimpfungs- und Heilflüssigkeiten gebraucht, obwohl die Benennungen im eigentlichen Sinne nur auf die Schutzimpfung gegen Pocken passen.

**) Zeitschr. f. klin. Medic. 19. 230.

meinen Untersuchungsergebnissen im Körper unempfänglicher Tiere (Meerschweinchen) nicht abgeschwächt.

Bei derartigen Versuchen thut man gut, das Material derart in den Tierkörper einzuführen, dass man seiner jederzeit bequem habhaft werden kann. Spritzt man Aufschwemmungen der Bakterien unter die Haut, oder gar in die Blutgefässe, so werden sie zu sehr über grössere Bezirke verstreut. Bei meinen Streptokokkenarbeiten führte ich die Leber oder die Milz einer soeben der Krankheit erlegnen Maus unter möglichst aseptischen Vorsichtsmassregeln in eine Hauttasche ein, nähte zu und entnahm nach Durchtrennung der Nähte in Zwischenräumen bis zu mehreren Wochen Stückchen des eingeschobnen Organs. (Eine ganz strenge Absepsis ist bei solchen Operationen am Tier ausserordentlich schwer und umständlich, allein schon beim Akte des Nähens; doch war sie in den genannten Versuchen auch nicht unbedingtes Erfordernis.) Bei Bakterien, die die Austrocknung gut vertragen (Sporen), kann man damit getränkte Seidenfäden unter die Haut einbringen. Wollte man, wie es beim Studium der Phagocytose mehrfach geschah, den Einfluss der zellfreien Körpersäfte feststellen, so wurde das Bakterienmaterial in Umhüllungen einverleibt, die zwar die Diffusion der Körpersäfte, nicht aber den Durchgang der Leukocyten gestatteten. Zu diesem Zwecke hat man verschliessbare Säckchen aus der feinen, den Markraum des Schilfrohres bekleidenden Membran oder aus Fliesspapier (Metschnikoff) oder aus Abschnitten des Dünndarmes vom Frosche (Baumgarten, Petruschky, J. 4. 419) gemacht.

Eine **Steigerung der Virulenz** ist selbstverständlich nur bis zu dem natürlichen Grade möglich und kommt daher bloss in Anwendung, wenn die verlorne wiederhergestellt werden soll, oder wenn es sich um Anpassung der Bakterien an ein weniger empfängliches Tier handelt, bei dem sie von Haus aus ihre volle Virulenz nicht entfalten.

Wie, um ein Beispiel von nicht krankheitserregenden Arten zu nehmen, die durch lange künstliche Züchtung allmählich sehr verminderte Säuerungsfähigkeit der Milchsäurebakterien durch mehrfache Uebertragungen auf Proben sterilisierter Milch, oder die mit der Zeit durch Kultivierung auf Nährgelatine erheblich nachlassende Eigenschaft des Bac. cyanogenes, die Milch blau zu machen, durch öftere Einsaat in nichtsterilisierte Milch wieder hergestellt werden kann, so kann auch die durch fortgesetzte Züchtungen ausserhalb des Körpers beeinträchtigte Virulenz von Krankheitserregern durch wiederholte Einimpfungen in hochempfängliche, womöglich junge Tiere gesteigert werden. Bei dem ersten Versuch nimmt man zweckmässigerweise (Levy, Arch. f. exp. Path. 29. 135) grössere Mengen der Kultur, um gleichzeitig viel giftige Stoffe und Bakterienzelleninhalt mit einzuführen. Erliegt dann das Tier der Krankheit, so gelingt es oft schon jetzt, durch Uebertragung eines bakterienhaltigen Organteilchens auf ein andres empfängliches Tier, die Virulenz bis zu einem dem ursprünglichen nahe, vielleicht gleich kommenden Grade zu erhöhen; andernfalls müssen Kulturen angelegt und davon weitere Einspritzungen in immer kleinern Gaben bei jedem folgenden Tiere gemacht werden.

Krankheitserreger, die von Haus aus wenig Neigung zeigen, sich im Körper einer gewissen andern Tierart zu vermehren, können

durch wiederholte Einverleibung immer virulenter für die betreffende Tierart werden. So gehen die im allgemeinen für Milzbrand nicht sehr empfänglichen Tauben an dieser Krankheit ein, wenn man sie mit Blut oder Gewebssaft von einer milzbrandig gewordnen Taube einimpft — sog. Passagemilzbrand —, während Tauben gleicher Art die Impfung mit der Ausgangskultur der Milzbrandbazillen gut vertragen (Czaplewski, Z. 12. 384). Aehnliches beobachtete Terni beim gelben Traubenkokkus (Cr. 14. 295). Ein andres Beispiel kann ich aus meinen Versuchen über die Streptokokkenkrankheit bei Mäusen anführen. Empyemeiter, einer Maus unter die Haut der Schwanzwurzel gebracht, rief eine örtliche Eiterung hervor, und es währte 111 Tage, bis das Tierchen der Einimpfung erlag; ein Stückchen Leber oder Milz auf ein andres übertragen, führte den Tod nach 38 Tagen herbei, die dritte weisse Maus starb nach der gleichen Abimpfung von einem retroperitonealen Abscesschen schon nach 1—2 Tagen, die vierte von einer angelegten Agarkultur abgeimpfte binnen 2—3 Tagen, und damit hatte der Streptokokkus seine Virulenz erreicht, die er durch Dutzende von Uebertragungen in fast genau derselben Weise beibehielt.

Haffkine verstärkte die Virulenz von Choleravibrionen, indem er zunächst von der Agaroberfläche eine mehrfach tödliche Menge der Reinkultur in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens brachte, dann den keimfrei entnommenen Erguss der Bauchhöhle mehrere Stunden bei Zimmerwärme der Luft aussetzte und damit ein andres Tier impfte. Nach 20—30 Uebertragungen hatten die Vibrionen eine gleichbleibende Virulenz, sie töteten in bestimmter Menge das Tier in derselben Zeit (C. 12. 258).

Derartige „Akklimatisationen" von Krankheitserregern an den Körper der Tiere hat zuerst Pasteur als Ausgang für die Gewinnung von Schutzimpfungstoffen vorgenommen, z. B. bei der Herstellung des Impfstoffs gegen die (in ihrer Ursache immer noch nicht aufgeklärte) Wutkrankheit. Die Pasteursche Behandlung geschieht bekanntlich mit verschieden lange Zeit bei 25° getrocknetem Rückenmark von Kaninchen, die mit „virus fixe" geimpft waren. Bringt man nämlich zerriebnes Hirn oder Mark tollwütiger Hunde („Strassenwut") Kaninchen unter die harte Hirnhaut, so erliegen diese Nager binnen 15 bis 20 Tagen der Wut. Wird dann in ähnlicher Weise vom Kaninchen auf ein andres fort und fort übertragen, so vermindert sich allmählich diese Zeit, nach 40—50maliger Uebertragung ist sie bis auf 7—9 Tage gesunken und bleibt dann gewöhnlich in dieser Dauer gleichmässig, man hat jetzt „virus fixe".

Ein andres Vorgehen, die geminderte Virulenz gewisser Bakterien für bestimmte Tierarten zu erhöhen, ist die gleichzeitige Einführung von andersartigen, auch nicht krankheitserregenden Bakterien oder von keimfreien Stoffwechselprodukten (filtrierten Kulturen). So gelang es, die Tetanusinfektion durch Miteinführung von Prodigiosus u. a. Saprophyten beim Tier zu erleichtern, die Streptokokkenkrankheit mit den abgeschwächten Kokken beim Kaninchen durch gleichzeitige Einverleibung des Proteus vulgaris hervorzurufen (Klein, Cr. 12. 691), ferner durch Mitüberimpfung des Streptokokkus die krankheitserregende Wirkung der Diphtheriebazillen zu erhöhen, und die Typhusinfektion selbst mit alten, der Virulenz völlig baren Typhuskulturen bei den

sonst wenig empfänglichen Tieren durch Einspritzung abgetöteter Kulturen von Bakterium coli commune oder von Proteus vulgaris, von sterilisiertem Kot oder von sterilisiertem faulendem Fleischaufguss hervorzurufen. Bei jedem folgenden Tiere waren immer kleinere Mengen der abgetöteten Kulturen erforderlich, schliesslich konnten sie ganz entbehrt werden und nach 25 Uebertragungen von Tier zu Tier war die Virulenz der Typhusbazillen bis zu jenem Grade gestiegen, wie er bei frisch aus dem menschlichen Körper gezüchteten beobachtet zu werden pflegt (Sanarelli, Chantemesse und Widal, P. 6. 721 und 755).

Derartige Möglichkeiten werfen ein Licht auf die Vorgänge in der Wirklichkeit, wo die Krankheitserreger den Körper nur selten in reinem Zustande befallen, sondern meist in Gesellschaft mit andern pathogenen oder saprophytischen Bakterien.

Um eine Kultur krankheitserregender Bakterien dauernd auf der Höhe ihrer Virulenz zu erhalten, muss sie öfters durch empfängliche Tiere geschickt und auf zusagenden Nährboden in nicht zu grossen Zwischenräumen weitergezüchtet werden. Für Untersuchungen, bei denen stets durchaus vollgültig virulentes Material für einwandfreie Ergebnisse erforderlich erscheint, empfiehlt sich die sog. „homogene Kultur". Der Name stammt von Metschnikoff; später wendeten sie vornehmlich Wasserzug (P. 1. 584) und Czaplewski (Z. 12. 371) an. Man versteht darunter eine bei den besten Wärme- und Ernährungsverhältnissen, beim geeignetsten Alkaleszenz- (oder Säure-)grad gezüchtete, möglichst frühzeitig, alle zwei, selbst jeden ganzen oder halben Tag auf frische Nährboden überimpfte Kulturen.

Um über die Virulenz einer Kultur richtigen Aufschluss zu erhalten, ist eine Dosierung des Infektionstoffs notwendig, die jedoch bei der Beschaffenheit des gegebnen Materials immer ziemlich grosse Ungenauigkeiten an sich tragen wird.

Kulturen in Flüssigkeiten werden zunächst gut durcheinander geschüttelt, damit sich der Bodensatz gleichmässiger verteilen kann; das gelingt aber nur annähernd, denn die Keime lassen sich nicht so trennen, dass jeder einzeln in der Flüssigkeit schwimmt, stets werden eine Anzahl in Klümpchen zusammenhängend bleiben. (Von dem wechselnden Bakteriengehalte gleich grosser Flüssigkeitsmengen derselben Herkunft kann man sich leicht durch mehrere Aussaaten auf Platten und Zählung der angegangnen Kolonien überzeugen. Dieses Fehlers muss man sich stets bewusst sein.) Die wohlgeschüttelte Bakterienaufschwemmung wird dann in eine sterilisierte Stroscheinsche Spritze gefüllt und die beabsichtigte Anzahl Teilstriche in den Tierkörper entleert. Sollen Mengen unter 0,1 ccm verwendet werden, so muss das Ausgangsmaterial mit genau geteilten Pipetten (1 ccm in 100 Teile) abgemessen oder in bestimmtem Verhältnis mit sterilisiertem Wasser oder Bouillon u. dgl. verdünnt werden.

Von Kulturen auf festen Nährboden werden in ähnlicher Weise Aufschwemmungen hergestellt und dann wie mit obigen Flüssigkeiten verfahren. Die Kultur wird von der Oberfläche des Agars u. dgl. mit der geaichten Platinöse (S. 265) abgenommen, womöglich die Ernte im tarierten Glase nochmals auf der chemischen Wage gewogen (R. Pfeiffer,

Z. 11. 397; Petruschky, Z. 12. 266). Die „Vaccins phéniqués", wie man sie zur Schutzimpfung des Menschen gegen Cholera verwendete, sind nach Tamamscheff (P. 6. 713) Aufschwemmungen der auf schräg erstarrtem Agar gezüchteten Choleravibrionen von entweder abgeschwächter oder verstärkter Virulenz, hergestellt mit 6 ccm ½ %iger steriler Karbolsäure auf ein Kulturröhrchen von stets gleicher Grösse (16 cm Länge, 1½ cm im Lichten); die Agaroberfläche ist 10 cm lang. Die Menge der in 24 Stunden bei 35° gewachsnen Kultur ist die Masseinheit. Die im Röhrchen durch vorsichtiges Abschaben und Schütteln bereitete Aufschwemmung wird zu je 1 ccm auf 6 Fläschchen verteilt, die demnächst in der Flamme abgeschmolzen werden.

Zusammenstellung der hauptsächlichsten Möglichkeiten der Erzeugung von Unempfindlichkeit gegen Krankheitstoffe.

Die zu dem gedachten Zwecke angewendeten Mittel, deren mehrere in der seitherigen Darstellung bereits Berücksichtigung fanden, sind folgende:

1. Lebende, nicht abgeschwächte Kulturen von Bakterien, die für gewisse Arten wohl giftig, aber nicht sehr infektiös sind, in erst geringen, dann allmählich ansteigenden Gaben einverleibt.

Durch die gleichnamigen Kulturen lassen sich z. B. Mäuse gegen Typhusbazillenwirkung (Beumer, Peiper u. a.), Kaninchen gegen Schweinerotlaufbazillen (Emmerich), Hunde gegen Rotzbazillen (Strauss) oder gegen Diphtheriebazillen (Wernicke) u. dgl. m. derartig widerstandsfähig machen, dass sie sonst tödliche Gaben vertragen.

2. Abgeschwächte Kulturen. Die Abschwächung kann erfolgen

a) durch Züchtung bei höhern Wärmegraden (Pasteur, Chamberland, Roux);
b) mittels Durchschickung durch den Körper weniger empfänglicher Tiere (ohne zwischengeschaltete Kultur), wie der Schweinerotlaufbazillen durch den Kaninchenkörper. Auch die bei der Jennerschen Schutzpockenimpfung erzeugte Vaccine ist hieher zu setzen;
c) durch länger dauernde Züchtung bei Luftzutritt (Pasteur: Hühnercholera, Buchner: Milzbrand);
d) durch Einwirkung des Sonnenlichts (Arloing), hohen Drucks (Chauveau), komprimierter Kohlensäure (D'Arsonval) auf Milzbrandbazillen;
e) durch Zusatz von Chemikalien (Chamberland, Roux: Karbolsäure, verdünnte Schwefelsäure, Kaliumbichromat zu Milzbrandkulturen; Gamaleia, Tamamscheff: Karbolsäure zu Choleravibrionen; Behring: Jodtrichlorid zu Diphtheriekulturen).

Hieher gehört auch die Erzeugung von Immunität gegen Diphtherie durch Verfütterung der gleichnamigen Kulturen,

insoferne als die Säure des Magensafts das abschwächende Mittel ist (Wernicke, Behring).

Dagegen möge als isoliert stehend an dieser Stelle die Vorbehandlung von Meerschweinchen und Kaninchen mit Wasserstoffsuperoxyd gegen die Diphtherieinfektion angereiht werden, sowie die Heilung diphtherieinfizierter Meerschweinchen durch örtliche Behandlung mit verschiednen Chemikalien, namentlich mit Jodtrichlorid (Behring, Boer).

3. Durch Siedehitze abgetötete Bakterien oder erhitzte, eingedampfte und dann filtrierte Kulturen. Eine eigentliche Schutzimpfung lässt sich, wie es scheint, damit nicht erzielen, wohl aber eine Wirkung in dem von Bakterien befallnen Körper; (Buchners Hemmung der Milzbrandinfektion durch Proteïne ungleichnamiger Bakterien, nämlich der Friedländerschen Kapselbakterien; Kochs Beeinflussung des tuberkulösen Prozesses durch Tuberkulin).

4. Mässig (auf 60—70°) erhitzte filtrierte oder unfiltrierte Kulturen (Th. Smith bei Schweineseuche; Foà und Bonome, Carbone bei Proteuskrankheit, Katz bei Hühnercholera, Charrin bei Bac. pyocyaneus, Roger bei Streptokokken, C. Fränkel bei Diphtherie u. a. m.).

5. Körpersäfte und Organe von kranken Tieren sind (abgesehen von in ihrem Ergebnis zweifelhaften Versuchen der Schutzimpfung gegen Lungenseuche von Bouchardat und Vignardin) zur Immunisierung von Behring in Gestalt der Brustfellausschwitzung diphtheritischer Tiere benützt worden; diese war lediglich giftig, weil von Haus aus frei von Bakterien. Bakterienhaltige Organe u. s. w. mussten erst keimfrei gemacht werden, was auf mehr oder minder eingreifende Weise geschah, entweder durch Trocknung, Erhitzung oder Filtration, so bei dem Rauschbrand (von Arloing, Cornevin und Thomas, ferner von Roux), und bei dem malignen Oedem (Roux und Chamberland); einen besonders wirksamen Impfstoff erhielten Roux und Chamberland durch Aufsammlung der serösen Flüssigkeit aus Muskeln und Zellgewebe von dem malignen Oedem erlegnen Meerschweinchen und Filtration dieses Serums durch Porzellan, bekannt als Immunisierung durch gelöste Stoffe.

Die Pasteursche Wutimpfung wird durch getrocknete Organteile (Rückenmark) der kranken Tiere bethätigt.

6. Blut oder Blutserum von Natur immuner Tiere hat zwar einen grossen Immunisierungswert nicht, immerhin aber liegen Beobachtungen vor, wie jene seitens Behring von gelungner Immunisierung von Mäusen gegen Milzbrand durch Einspritzung des Blutes der unempfänglichen Ratten, ferner von Ogata und Jasahura, die durch Hundeblutserum oder Froschblut Mäuse gegen die Erkrankung an (abgeschwächtem) Milzbrand geschützt haben wollten, was aber von andrer Seite (Enderlen) nicht bestätigt werden konnte.

Die beiden japanischen Forscher wollen auch ein „Ferment" mit gegen Milzbrand immunisierender Wirkung aus Hunde- und Hühnerblut auf chemischem Wege dargestellt haben. Vor ihnen schon hatte Hankin aus Blut und Organen von milzbrandimmunen Tieren (sowie aus Milzbrandkulturen) schützende Stoffe, von ihm Albumosen genannt, hergestellt.

7. Blut oder Butserum von künstlich auf die eine oder andre Art immunisiérten Tieren führte zu ganz hervorragenden Erfolgen.

Als Blutserumtherapie, zunächst bei Tetanus und Diphtherie, ist diese Methode von Behring in erster Linie bearbeitet und auf einen bereits hohen Grad praktischer Leistungsfähigkeit gebracht worden. Die Bildung von „Antitoxinen" im Tier ist um so grösser, je intensiver der Krankheitsverlauf war, und je öfter der Körper die gleiche Krankheit überstanden hat. Durch fortwährende schrittweise Erhöhung der Immunität bei kleinern und grössern Tieren kam Behring schliesslich in den Besitz von Tieren, deren Blutserum selbst zur Heilung des Tetanus und der Diphtherie beim Menschen erfolgreich verwendet werden konnte. Die Immunisierung geschah nach einer kombinierten Methode, indem die Thiere (Schafe) zuerst mit abgeschwächten Kulturen und hinterher mit allmählich gesteigerten virulenten Kulturen, also nicht abgeschwächtem (Diphtherie-)Gift, behandelt wurden. Dabei wurde zunächst abgeschwächtes Gift in solcher Gabe unter die Haut der Tiere gespritzt, dass sie Fiebererscheinungen bekamen; die Einspritzungen wurden solange wiederholt, bis keine Wärmesteigerung mehr zu beobachten war; dann wurde die Gabe des abgeschwächten Giftes vermehrt, um wieder neue Reaktionen zu erzeugen, u. s. w. (G. d. D. 163). Es erwies sich als unvorteilhaft, ein vollständiges Immunwerden des Versuchstieres herbeizuführen, denn die Antitoxine waren nur nach vorausgegangnen fieberhaften Reaktionen in gewünschtem Masse vorhanden. Allmählich wurden sie wieder ausgeschieden (D. 93. 1254). Das spricht für die von Buchner aufgestellte und experimentell begründete Annahme, dass es sich bei den Antitoxinen, den von ihm sog. Alexinen (von ἀλέξειν = abwehren), um plasmatische Substanzen des Bakterienleibes handelt, die als nicht mehr giftige Stoffe ins Blut des behandelten Tieres übergehen und ihm eine immunisierende Wirkung verleihen (M. 93. 482. B. 94. 73).

Derartige Stoffe, natürlich lediglich spezifischer Natur, finden sich im Blute jedes Individuums, das die Krankheit überstanden hat, sind aber in der Regel nur so schwach darin vorhanden, dass sie sich nicht immer durch den Versuch nachweisen lassen. Immerhin ist das schon mehrfach geglückt, so bei Menschen, die von Diphtherie geheilt waren, oder Typhus (Stern u. a.), krupöse Lungenentzündung (Gebr. Klemperer), oder Cholera (H. Klemperer, Lazarus, Ketscher) überstanden hatten. Ja nicht bloss im Blute finden sie sich, auch in Sekrete gehen sie über, z. B. in den Harn (Behring), oder in die Milch, wie Brieger und Ehrlich bei gegen Tetanus immunisierten Ziegen fanden: durch solche Milch konnte die Tetanusimmunität auf dem Wege des Verdauungskanals auf andre Tiere übertragen werden; die Schutzstoffe liessen sich sogar durch Eindampfung der Molke oder durch Ausfällung mit Ammonium- oder Magnesiumsulfat konzentrieren (Z. 13. 336).

Eine Uebertragung der Immunität ist also sowohl von der Mutter, wie von der Amme auf die Säuglinge möglich. Auch innerhalb des mütterlichen Körpers auf den Fötus kann eine solche Uebertragung statthaben, was schon früher von Chauveau bei gegen Milzbrand immunisierten Schafen beobachtet wurde. Selbst eine Vererbung der Immunität vom Vater auf die Nachkommen soll nach Tizzoni und Centanni (C. 13. 81) bei der Hundswut, wie beim Tetanus vorkommen.

Allgemach beginnt sich die Verworrenheit zu klären, die ausser durch die Verwickeltheit der natürlichen Verhältnisse nicht zum mindesten durch so mancherlei nach den verschiedensten Gesichtspunkten angestellte Versuche hervorgerufen wurde, die mitunter nur unvollkommen abgeschlossen von ihren Urhebern zur Erstlingswahrung in bogenfüllenden Veröffentlichungen mitgeteilt wurden.

Sehen wir das lesenswerte Referat Buchners über den Stand der Immunitätslehre gelegentlich des VII. internationalen Kongresses für Hygiene und Demographie in London (M. 91. 551) durch, so mag es kaum möglich scheinen, alle die verschiedenartigen Punkte übersichtlich im Gedächtnis zu ordnen oder gar unter einen oder einige wenige Gesichtskreise zu bringen. Da ist es nun eins der Verdienste Behrings, der hinderlichen Annahme von der Verschiedenheit einer giftigen von einer immunisierenden Substanz in den Bakterien oder ihren Kulturen mit Beweisen entgegengetreten zu sein, und seines Mitarbeiters Knorr, durch einen einfachen Versuch dargethan zu haben, dass erhitztes und dadurch abgeschwächtes Tetanusgift allein für sich die Fähigkeit hat, Mäuse sowohl zu immunisieren, wie auch nach der Vergiftung mit dem unerhitzten Gift vom Tode zu retten. Nunmehr wissen wir, dass immunisierende Stoffe in Bakterienkulturen nichts weiter sind, wie abgeschwächte Giftstoffe, und dass der zu beobachtende Unterschied der Wirkung von erhitzten und nicht erhitzten Kulturen kein qualitativer, sondern nur ein quantitativer ist, der sich bereits bemerklich macht, wenn man lediglich eine Filtration vornimmt. Zahlenmässig bewies Behring in einer Untersuchung, dass der Giftwert der Kultur nach Ausschaltung der noch lebenden (Diphtherie-) Bazillen durch Filtration um das 15fache geringer wurde, nach Abtötung der Bazillen und nach der Beeinflussung ihres Giftes durch Erwärmung auf 65° während $1\frac{1}{2}$stündiger Dauer mindestens um das 300fache sank.

Führen wir uns jetzt die Immunisierungsverfahren der verschiednen Forscher, deren hauptsächlichste vorhin beschrieben wurden, von diesem Standpunkte aus vor Augen, so sehen wir bei allen das Gemeinsame, dass die Immunisierung durch den irgendwie abgeschwächten Giftstoff angebahnt und der Organismus durch fortschreitende Behandlung allmählich für die Ertragung des stärkern vorbereitet wurde. Jede Art der Immunität ist also schliesslich zurückzuführen auf die Verwendung von Bakteriengiften, die, dem Zellleib der Bakterien entstammend, entweder durch ungünstige Lebensbedingungen, oder durch Erwärmung, oder durch chemische Mittel, oder durch Filtration, oder durch Verdünnung, oder endlich durch Kombinierung einiger dieser Momente eine Einbusse erlitten haben, ohne ihre krankmachende Eigenschaft ganz zu verlieren.

Das Ideal wäre, wenn es gelänge, sie auch dieser letztern Eigenschaft vollends zu entkleiden, so dass jede giftige Wirkung ausgeschaltet würde, und nur eine immunisierende Kraft übrig bliebe. Bei auf bakterieller Ursache beruhenden Krankheiten ist die unmittelbare Gewinnung eines solchen Impfstoffs aus den Bakterien bis jetzt noch nicht geglückt, wohl aber auf mittelbarem Wege durch die Verwendung des Blutserums immunisierter Tiere.

Ich schliesse mich der Ansicht Buchners (M. 93. 482) an, der die immunisierenden Stoffe, die Alexine im Blute immunisierter Tiere durch irgendwelche

unter dem Einfluss des Organismus bedingte Umlagerungen der giftigen Bakterienzellstoffe entstanden erachtet. Ich neige nicht zu der Annahme des gleichzeitigen Vorhandenseins von zweierlei Dingen in den Bakterien, von giftigen und immunisierenden Stoffen, sondern nur zu der Annahme eines einzigen, zunächst giftigen Stoffes, der eben im Körper etwa in der Art einer molekularen Umlagerung zu einem ungiftigen und zugleich immunisierenden werden kann.

Der Impfschutz, den irgend ein Bakteriengift oder ein nach geeigneter Vorbehandlung gewonnenes Blutserum erzeugt, ist stets ein spezifischer, d. h. er bethätigt sich lediglich gegen die Krankheitserreger, von denen er ausging.

Es gelingt also z. B. mit dem Blutserum eines gegen Diphtherie immunisierten Tieres nur wieder die Diphtherie zu verhüten oder aufzuhalten, eine andre Krankheit nicht. Möglich aber scheint es zu sein, ein und dasselbe Thier gegen mehrere Krankheiten festzumachen, so dass das von ihm entnommene Blut auch gegen die gleichnamigen Krankheiten mit Erfolg verwendet werden kann (der Gebr. Klemperer gegen Pneumonie- und Mäuseseptikämiebakterien immunisiertes Kaninchen B. 92. 421).

Die frühere Angabe von Roux, derzufolge gegen Rauschbrand gefestigte Meerschweinchen auch gegen malignes Oedem sich unempfänglich erwiesen, konnte Kitasato in einer grössern Versuchsreihe nicht bestätigen (Z. 8. 60). Dagegen finden sich noch einige Mitteilungen in der Literatur über die Möglichkeit der Immunisierung durch Vorbehandlung mit Kulturen artverwandter Mikroorganismen, so von Hueppe und Wood (B. 89. 547), die Mäuse gegen virulenten Milzbrand durch Vorbehandlung mit einer artverwandten, aus Erde und Wasser gezüchteten, nicht virulenten Bakterienart schützten, sowie von Bonome (F. 9. 743), der die Filtrate der Kulturen der Kaninchenseptikämie fähig fand, Kaninchen gegen den Diplokokkus der Pneumonie widerstandsfähig zu machen, während auffallenderweise eine Immunisierung gegen die Kaninchenseptikämie selbst, dadurch nicht erzielt werden konnte.

Gewinnung und Verwendung des Blutserums künstlich immunisierter Tiere.

Erfolge mit der Behandlung von Menschen und Tieren durch Einverleibung des Blutserums künstlich immunisierter Tiere wurden bis jetzt bei zwei schweren Krankheiten erzielt, beim Wundstarrkrampf und bei der Diphtherie.

Die Entnahme des Blutes erfolgt nach Behring durch Aderlass, der unter antiseptischen Vorsichtsmassregeln ausgeführt, an demselben immunisierten Tiere wiederholt vorgenommen werden kann. Ein 54 Kilo schwerer, gegen Diphtherie immunisierter Hammel z. B. vertrug Blutentziehungen von 250—500 ccm und mehr in 14tägigen Zwischenräumen ganz gut. Das Blut bleibt zunächst zwei Tage lang im Eisschranke stehen, das ausgeschiedne Serum wird dann in eine Flasche abgegossen, an deren Boden sich Chloroform (1 Raumteil der gesamten Flüssigkeitsmenge zur Sterilisierung) befindet, und verschlossen einen weitern Tag hingestellt, damit darin noch enthaltne Blutkörperchen zu Boden sinken. Dann wird die überstehende klare Flüssigkeit umgefüllt und mit 0,6 % Karbolsäure versetzt im Dunkeln aufbewahrt. Dieser Karbolzusatz hat nicht allein den Zweck, das Serum vor dem Verderben zu schützen, wenn der Chloroformgehalt allenfalls

ungenügend geworden sein sollte, sondern er dient auch dazu, gewisse in ihrem Wesen noch unbekannte und darum mit dem Fremdwort „Acria“ belegte Stoffe unschädlich zu machen, die sich im Blute befinden und bei der Einführung in den menschlichen Körper nesselsuchtartige Erscheinungen und leichtes Fieber hervorzurufen imstande sind.

Die Anwendung findet bei Mensch und Tier stets als Einspritzung unter die Haut statt, bei kranken Menschen, meist über den Brustmuskeln oder in der Mohrenheimschen Grube, bei Versuchstieren auf der der Gifteinführung entgegengesetzten Seite nach der Achselgegend hin. Für die den Tetanusforschungen dienenden Pferde haben Behring und Casper einen einfach zusammengesetzten Infusionsapparat beschrieben*).

Den „Heilwert“ eines Serums**) drückt Behring durch den Immunisierungswert aus, weil man dabei vom gesunden Zustande des Individuums ausgehen kann, während bei der Begrenzung des Heilwertes für sich noch mehrere, teils schwer feststellbare Dinge, wie die Stärke der Infektion, das Körpergewicht und namentlich das Stadium der Erkrankung mit in Rechnung zu ziehen wären.

Der Immunisierungswert wird von Behring an Tieren festgestellt, die ein Mehrfaches der tödlich wirkenden Mindestgabe des Tetanus- oder Diphtheriegiftes eingespritzt erhalten haben.

Das bakterienfreie Gift hat sich viel besser erwiesen, als die bakterienhaltige Kultur, die infolge von Ungleichheiten je nach dem Nährmittel und den Wärmeverhältnissen in ihrer Wirkung weit weniger gleichmässig ist. Es wird entweder durch Abgiessung einer alten Kultur vom Bodensatze oder durch Filtrierung erhalten. Die Tetanusgiftlösung ist gegen äussere Einflüsse wesentlich empfindlicher, als die des Diphtheriegiftes; namentlich durch den Sauerstoff der Luft scheint sie in ihrer Wirkung ganz erheblich beeinträchtigt zu werden, aber auch durch Licht. Sie muss deshalb ruhig in demselben Gefäss stehen bleiben, die Flüssigkeit wird möglichst hoch genommen und die Flasche, mit einem passenden Korkstopfen wohl verschlossen, im Dunkeln aufbewahrt. Zum Schutze vor Verunreinigung durch Mikroorganismen wird dem Tetanusgifte, wenn die Aufbewahrung nur wenige Tage währen soll, Chloroform zugesetzt; für die Dauer äussert das Chloroform schädigende Wirkungen und man wählt dann besser 0,6 % Karbolsäure als Zugabe. Viel leichter lässt sich das zwar gegen Licht ebenso, aber gegen Sauerstoff weniger empfindliche Diphtheriegift halten; es kann mit einem Zusatz von 1% Karbolsäure vor Licht geschützt, bei Zimmerwärme in verschlossner Flasche ohne Schaden jahrelang aufbewahrt werden.

Die tödliche Mindestgabe des Tetanusgiftes ist die, wo-

---

*) Behring, Das Tetanusheilserum und seine Anwendung auf tetanuskranke Menschen. Der Blutserumtherapie (= Bl. Th.) 2. Teil; Leipzig bei Thieme, S. 116; 89.

**) Seitdem Buchner bewiesen, dass die Wirkung des Serums immunisierter Tiere keine giftzerstörende sein kann, sondern nur eine durch ins Blut übergegangne bakterielle Stoffe bedingte immunisierende sein muss, kann man von einer antitoxischen Wirkung, von einem Heilserum, von einer künstlichen Heilung im strengen Sinne des Wortes nicht mehr reden, sondern nur von immunisierenden Stoffen und immunisierenden Wirkungen (M. 93. 481).

durch Mäuse in durchschnittlich 3—5 Tagen sterben. Diese für alle Mäuse sicher tödlich wirkende Mindestgabe ist für die meisten Mäuse ein Mehrfaches der für einzelne tödlich wirkenden Mindestgabe, die aber den Tod erst nach 6—8 Tagen herbeiführt. Zur Bestimmung ihrer Grösse müssen viele Tiere unter genau den gleichen Bedingungen vergiftet werden; da es sich meist um sehr kleine Mengen handelt, muss die ursprüngliche Giftlösung immer erst verdünnt werden, derart, so dass nie weniger als 0,2 ccm Flüssigkeit zur Anwendung gelangen (Z. 13. 409).

Der Wirkungswert des Giftes wird ausgedrückt durch Verhältniszahlen: Eine Tetanusgiftlösung von dem Wirkungswert 1 : 4 Millionen bespielsweise ist eine solche, von der 1 g 4 Millionen g Mäuse tötet, so dass also zur Tötung einer Maus von 20 g Gewicht 0,005 mg der Giftlösung notwendig wären.

Die tödliche Mindestgabe des Diphtheriegiftes ist die, wodurch etwa 500 g schwere Meerschweinchen binnen 2—3 Tagen sterben. Sie beträgt in der Regel 0,8 ccm und ist ebenfalls ein Mehrfaches der für die meisten Meerschweinchen 0,05 ccm betragenden tödlichen Dosis. Zur Erzeugung der Diphtherievergiftung benützten Behring und Boer (D. 93. 416) eine mehr als halbjährige Bouillonkultur.

Von jungen, zwei Tage im Brutschrank der Entwicklung überlassnen Bouillonkulturen mit lebenden Diphtheriebazillen, also bei der Diphtherieinfektion waren zur sichern Tötung aller, auch der grössten Meerschweinchen binnen 2—3 Tagen, 0,025 ccm erforderlich, das Zehnfache der Mindestgabe, die Tiere von 500 g Gewicht manchmal tötet, manchmal aber nur krank werden lässt.

Kehren wir nun zurück zur Darlegung des Immunisierungswertes eines Heilserums.

Wenn Behring sagt, ein Tetanusheilserum besitzt einen Immunisierungswert von 1 : 1 Million, so soll damit ausgedrückt werden:

1	ccm	Serum	immunisiert	1000000 g	Tier	=	50000	Mäuse
0,00002	„	„	immunisieren	20 g	„	=	1	Maus
0,05	„	„	„	50000 g	„	=	1	Schaf
0,4	„	„	„	400000 g	„	=	1	Pferd
0,1	„	„	immunisiert	100000 g	„	=	1	Menschen.

Da aber erfahrungsgemäss nach erfolgter Krankmachung, und zwar bereits in der nächsten Zeit, wenn die allerersten tetanischen Erscheinungen sich zeigen, zu ihrer Beseitigung mindestens das 1000-fache der für die Verhütung noch genügenden Gabe notwendig ist, so bedarf man unter der Voraussetzung, dass für die Wiederherstellung des Menschen dieselben Verhältnisse zutreffen, wie für kleine und grosse Versuchstiere, als Mindestgabe für einen erkrankten Menschen 100 ccm eines Serums mit dem Immunisierungswerte von 1 : 1 Million.

Die erforderliche Serummenge steigert sich, je weiter der Tetanus vorgeschritten ist. Zwölf Stunden nach der Beobachtung der ersten tetanischen Erscheinungen war im Tierversuch bereits die 100000fache Menge Serums nötig und 24—36 Stunden später liess sich mit dem Serum von dem Wirkungswerte 1 : 1 Million überhaupt nichts mehr ausrichten. Da nun beim Menschen in der Regel nicht mehr als 100 ccm eingespritzt werden sollen, so können kurz vor dem Tode

stehende Tetanusfälle voraussichtlich erst gerettet werden, wenn das Serum einen Immunisierungswert von 1 : 100 Millionen erreicht hat (Bl. Th. 2. 19).

Ausser mit dem Vorgeschrittensein der Erkrankung steigt die einzuverleibende Serummenge mit ihrer Schwere. Im Tierversuch konnte festgestellt werden, dass schon 1/4 Stunde nach der Infektion der Serumbedarf zur Vermeidung des Todes am Tetanus in geometrischer Progression wuchs, wenn man die Giftgabe in arithmetischer Progression ansteigen liess.

Unter Normal-Tetanusheilserum versteht Behring ein auf seinen Immunisierungswert (= 1 : 1 Million) genau geprüftes Pferdeblutserum vom 23. November 1892. Lediglich zur Vereinfachung der Wochen beanspruchenden Arbeit der Wertbestimmung andrer Serumproben wurde dieses genau geprüfte, sonst rein willkürlich gegewählte Serum unter geeigneten Vorsichtsmassregeln aufbewahrt und dient nun zur Bestimmung von neuem Serum, indem sein Wert = 1 gesetzt ist.

Als Normal-Diphtherieheilserum hat derselbe Gelehrte ein von ihm aus einem immunisierten Schafe gewonnenes Serum bezeichnet, das für die Behandlung diphtheriekranker Menschen bei mässiger Dosierung gerade ausreichend sich erwies. Im Tierversuche war dieses Serum imstande, ein Meerschweinchen von mittlerm Körpergewicht — etwa von 500 g — nach Vergiftung mit 0,8 ccm des vorhin genannten alten Diphtheriegiftes vom Tode zu retten, wenn 1/4 Stunde vor der Einspritzung der Giftlösung unter die Haut demselben Tiere an einer von der Giftinjektionstelle entfernten Hautstelle das Serum in einer Menge von 1 : 100 Körpergewicht, also etwa 5 ccm davon eingespritzt wurden (D. 93. 391).

Für den Wert des Normal-Diphtherieheilserums gelten genau dieselben Grundsätze wie bei dem Normal-Tetanus-Heilserum, nur ist das mit dem Vorgeschrittensein und der Schwere der Erkrankung wachsende Mehrfache der Immunisierungsgabe hier viel kleiner.

Ein Normalserum ist nicht das wirksamste Serum, das überhaupt erhalten werden kann. Behring und seine Mitarbeiter haben noch viel wirkungsreichere Serumproben von ihren immunisierten Tieren gezogen.

Das Normalserum wird bezeichnet als NI. Danach wird das neue Serum bestimmt. Ist es z. B. fünfmal wirksamer, so erhält es die Bezeichnung NV, ist es dagegen zehnmal weniger wirksam, so heisst es 1/10N-Serum.

Brieger und Ehrlich haben sich bei ihren Versuchen über die Immunisierungskraft der Milch immunisierter Tiere einer andern zahlenmässigen Bestimmung bedient. Zur Feststellung des vollen Schutzwertes der Milch wurde 24 Stunden nach der Einbringung von 0,2 ccm der Milch das giftige Tetanusgemisch eingespritzt. Um nun für eine Reihe von Mäusen mit verschiednem Gewicht die jedesmalige Herstellung einer bestimmten Lösung zu umgehen, machten

sich die genannten Forscher vom Körpergewichte unabhängig und gaben den Mäusen stets die auf 20 g berechnete Menge.

Wenn 0,2 ccm Milch eine Maus von 20 g gegen die zehnfache tödliche Dosis schützen, so würde 1 ccm Milch 1 g Maus gegen die 1000fache tödliche Gabe schützen. Der Immunisierungseffekt wäre mithin = 1000. Nimmt man nun bei einer Maus theoretisch z. B. das Körpergewicht von 10 g an, so werden die 0,2 ccm Milch sie gegen die 20fach tödliche Gabe schützen, und es stellt sich die Berechnung, wie folgt:

0,2 ccm	Milch	schützen	10 g	Maus	gegen	die	20fach	tödliche Gabe;
1 „	„	schützt	10 g	„	„	„	100fach	„ „
1 „	„	„	1 g	„	„	„	1000fach	„ „

Voraussetzung ist dabei, dass man ein gleichmässiges Durchschnittsmaterial von Tieren hat; verschiedne Varietäten der Mäuse, schlecht genährte, kleine Tiere sind sehr empfindlich gegen Tetanus, sehr wilde mit kräftigem Körperbau viel weniger. Bei ungleichmässigem Tiermaterial wird man auch keine übereinstimmenden Werte erwarten können (Z. 13. 336).

Untersuchungen über Entwicklungshemmung und Abtötung von Bakterien.

Unter den die praktischen Ziele verfolgenden Untersuchungen Kochs und seiner Schüler, wie sie sich alsbald an die Feststellung der Ursache des Milzbrandes und andrer Krankheiten mit den neuen Methoden anschlossen, waren die Versuche über die Vernichtung der Krankheitserreger mit die ersten.

Gerade an den Milzbrandbazillen und ihren äusserst widerständigen Sporen konnte die Leistungsfähigkeit der zur Desinfektion verwendbaren physikalischen und chemischen Mittel am sichersten erprobt werden und bis heute sind diese Sporen eins der wichtigsten Objekte für solche Untersuchungen geblieben. Was auf sie nachteilig und vernichtend wirkt, kann mit demselben Erfolge und oft noch leichter gegen andre Krankheitserreger verwendet werden, denn kein einziger ist unter ihnen bekannt, dem eine stärkere Widerstandsfähigkeit innewohnte, und soweit sich bis jetzt übersehen und voraussagen lässt, wird auch kaum jemals ein derartiger gefunden werden. Alle Dauerformen, die darin die Milzbrandsporen übertreffen — und deren finden sich nicht wenige in der Natur, hauptsächlich in den obern Schichten des Erdreichs — haben keinerlei krankmachende Wirkung gegenüber dem Menschen oder dem Thiere. Wohl aber sind weitaus die meisten Krankheitserreger mehr, zum Teil sogar beträchtlicher hinfällig, nicht bloss die die Mehrzahl bildenden sporenlosen, wie Eiterkokken, Tuberkel-, Rotz- und Typhusbazillen, Choleravibrionen u. s. w., sondern auch die sporentragenden, wie die Tetanusbazillen u. a.

Nicht alle Mittel, namentlich nicht in den anwendbaren Konzentrationen, wirken tötend auf die Bakterien, aber das ist für unsre Zwecke auch nicht immer unbedingt erforderlich. Es genügt oft schon, wenn sie nur imstande sind, die Entwicklung zu verlangsamen, oder ihr ganz Eintrag zu thun. Auf diesem Punkte fusst eine sehr geläufige Unterscheidung zwischen *entwicklungshemmenden* = *antiseptischen* einerseits und *bakterientötenden* = *desinfizierenden* Mitteln andrerseits. Beide Begriffe sind voneinander zu trennen. Wenn es gelingt, die Entwicklung eines Kleinwesens solange hintanzuhalten, bis es eine schädliche Wirkung nicht mehr entfalten kann, wie z. B. bei der Wundbehandlung, so ist damit in vielen Fällen dem wirklichen Bedürfnis Genüge geleistet.

In frühern Zeiten hat man die Wirksamkeit gewisser Mittel lediglich nach ihrer Fähigkeit beurteilt, die Fäulnis in zersetzungsfähigen Stoffen zu verhindern. Wenn sich auch darauf ein oder das andre Prüfungsverfahren noch heute gründet, als ausschlaggebend wird es nicht betrachtet werden können, nachdem wir mit den Reinkulturen der Bakterien viel sprechendere Ergebnisse erhalten können.

Wie oft begegnet man noch jetzt den naivsten Ansichten! Ich erinnere nur an die Aufstellung von Gefässen mit Chlorkalk in Aborten. Der Chlorgeruch allein bringt so manchen zur Meinung, es sei bereits irgend eine desinfektorische Wirkung erzielt; das Unerträgliche der Dämpfe der schwefligen Säure für den Menschen hat zu der irrigen Annahme geführt, dass in einer solchen Atmosphäre auch die niedern Lebewesen nicht standzuhalten vermöchten, und trotz der gegenteiligen Beweise der im Kaiserlichen Gesundheitsamt angestellten Versuche (*Wolffhügel*, K. M. 1. 188) hat sie noch immer ihre Anhänger. In den Anpreisungen der Fabrikanten, die irgend eine Ware zur Desinfektion von Fäkalien und Abortgruben an den Mann bringen wollen, steht oft die Angabe, dass der üble Geruch durch sie beseitigt würde; und unter den Abnehmern gibt es immer noch genug, für die zwei grundverschiedne Begriffe, wie *Desodorisation* und *Desinfektion* ineinander verschwimmen.

Ich nehme hier Gelegenheit, einige Worte über die *Desinfektion von Jauche, Latrinen* u. dgl. einzuschalten. Eine solche ist im strengen Sinne des Wortes nicht möglich. Denn angesichts der grossen Mengen lassen sich bislang weder hohe Hitzegrade, noch chemische Mittel zur Keimfreimachung verwenden; diese stehen, wie immer, der Hitze noch darin nach, dass ein gut Teil ihrer Wirkung durch chemische Bindungen verloren geht, oder dass ihr Eindringen in grössere Massen aus rein mechanischen Gründen unmöglich ist; auch nehmen wir ganz abgesehen von den Kosten von der Verwendung von Sublimat u. s. w. schon darum Abstand, weil dadurch der Düngwert zu Verlust geht. Es richtet sich vielmehr unser Bestreben bloss darauf, etwa darin befindliche Krankheitserreger zu vernichten. In den von den Menschen herrührenden Absonderungen kommen vornehmlich die Typhus- und Cholerabakterien in Betracht. Besonders die letztern sind verhältnismässig leicht durch Kalk zu vernichten. Sehen wir zu, dass durch jeden Abortsitz täglich mindestens ein oder mehrere Liter Kalkmilch — hergestellt aus je ein *Raumteil* gelöschten Kalks auf 4 Liter Wasser — eingegossen wird (E. *Pfuhl*, Z. 7. 363), so werden damit

die Fäkalien, ohne an Düngwert Einbusse zu erleiden, derart mit Kalk durchsetzt, dass etwa lebend hineingelangten Krankheitserregern eine längere Lebensdauer oder gar eine Vermehrung abgeschnitten wird, vorausgesetzt, dass die Kalkmilch stets annähernd gleichmässig im Inhalte verteilt bleibt. Das ist freilich für die Dauer nur wahrscheinlich in Gruben, worin sich bloss Fäkalstoffe sammeln, während flüssige Abgänge weggeleitet werden. Ich habe bei eingehenden Untersuchungen an einer Grube von 2,51 qm Grundfläche und 3,3 m Höhe, deren zementierte Wände nach vollständiger Räumung mit Kalkmilch der obigen Zusammensetzung besprengt worden waren, gefunden, dass es nur eine Zeitlang gelang, den von durchschnittlich 33 Personen gelieferten festen, zum grössten Teil aber flüssigen Inhalt mit täglichen Eingiessungen von zusammen 6 l Kalkmilch durch die 6 Abortsitze derart zu verändern, dass Cholera- und Typhusbazillen, die man den entnommenen, in Reagensgläsern im Dampf sterilisierten Jaucheproben zusetzte, binnen 24 Stunden abstarben. Nachdem sich die Grube bis auf 2 m Höhe gefüllt hatte, reichte die eingegebne Kalkmenge zwar eben hin, um Cholerabakterien zu vernichten, Typhusbazillen aber blieben darin jetzt lebend. Als der Inhalt bis auf 2,3 m Höhe gestiegen war, starben auch die Cholerabakterien in den Jaucheproben nicht mehr ab. Der Grund war jedenfalls in der allmählichen Zunahme der Flüssigkeitsmenge zu suchen, in der sich die eingegebne Kalkmilch rasch verteilen und der Kalk zu Boden sinken musste, so dass von einer Wirkung nicht mehr die Rede sein konnte*).

Desinfektionsversuche pflegen wir anzustellen einmal zur Prüfung der Widerstandsfähigkeit von Bakterien oder ihrer Sporen gegenüber in ihrer Wirkung bekannten Desinfektionsmitteln — Arbeiten zum Studium der Lebenseigenschaften der Bakterien — andre Male wollen wir Aufschluss über die Leistungsfähigkeit gewisser Stoffe gegenüber Bakterien mit bekannter Widerständigkeit erhalten. Infolge solcher Versuche musste man zwar eine Anzahl früher, ohne weitere experimentelle Begründung als gut angesehener Desinfektionsmittel ausschalten, dagegen wurden andre in den Vordergrund gerückt oder ihre wirksamen Bestandteile erschlossen, oder neue entdekt, die sich zum gedachten Zwecke besser eigneten.

Werden die im Versuch gewonnenen Erfahrungen auf die Wirklichkeit übertragen, so kommt uns die stattliche Reihe verschiedner wirksamer Stoffe wohl zu statten, denn das eine Mittel eignet sich besser in diesem, das andre in jenem Falle. Sache der Ueberlegung, nicht des willkürlichen Herausgreifens eines von ihnen ist es, was bei der Wahl ausschlaggebend wirkt. Wir müssen hier ähnlich, wie bei der Verwendung von Arzneimitteln bei Kranken, individualisieren.

Wir können uns fürs erste zur Bekämpfung der Krankheitserreger ausserhalb des Körpers verschiedner Verfahren und Mittel bedienen, je nachdem wir es mit Kleinwesen von grösserer oder geringerer Widerständigkeit zu thun haben, und anders z. B. bei der Vernichtung der Tuberkelbazillen vorgehen, wie bei der der Choleravibrionen.

---

*) Sanitätsbericht über die kgl. bayerische Armee für die Zeit vom 1. April 1889 bis 31. März 1891. München 1893. Anhang S. 80.

Als weiterer Punkt für solche Individualisierungsbestrebungen kommt die Art des zu desinfizierenden Gegenstandes in Betracht. Nicht für jeden eignet sich jedes Desinfektionsmittel, Dampf z. B. niemals für Lederwaren.

Ferner kommt es wesentlich auf den Sitz und die Lage der zu bekämpfenden Ansteckungsstoffe an, ob sie überhaupt nicht oder nur schwer erreichbar sind — z. B. von trockner, selbst von feuchter Hitze innerhalb schlechter Wärmeleiter — oder ob sie von Eiweiss, Schleim und andern Dingen umgeben sind, die gewissen Chemikalien den Durchtritt erschweren oder unmöglich machen. Je besser ein Desinfektionsmittel die Umgebung der Bakterien, die sich oft aus Schmutz aller Art, Fett u. dgl. zusammensetzt, aufzuschliessen vermag, desto besser eignet es sich zur Anwendung. Wir müssen aber auch den Mitteln selber den Weg ebnen, indem wir für die Entfernung solcher Schmutzstoffe durch gründliche mechanische Reinigung sorgen, die der Desinfektion wo nur immer möglich vorangeschickt werden soll: z. B. durch tüchtige Abbürstung der Hände in warmem Seifenwasser, durch vorgängige Reinigung von Wänden und Fussboden mit heisser Sodalösung u. dgl. m.

Endlich spielt der Preis des Desinfektionsmittels für die Praxis eine wesentliche Rolle. Bei gleich stark wirkenden Mitteln wird man im allgemeinen dem billigern den Vorzug geben, was namentlich bei der Desinfektion im grossen in Betracht kommt, z. B. bei der Desinfektion der Latrinen u. s. w.

Die Ausführung der Versuche

im Laboratorium richtet sich immer möglichst nach den Anforderungen, die die Wirklichkeit stellt; wir werden deshalb annähernd die gleichen Umstände nachzuahmen haben, wie sie unter natürlichen Verhältnissen liegen, wo die Krankheitserreger höchst selten in reinem Zustand oberflächlich zu Tage tretend getroffen werden. Nur für die eigentlichen Studien der Lebenseigentümlichkeiten der Bakterien oder der Wirksamkeit einzelner entwicklungshemmender oder bakterientötender Mittel an sich werden wir die mit den Reinkulturen gewonnenen Ergebnisse ohne weiteres verwerten können.

Eine der häufigst gebrauchten Anordnungen ist die Verwendung von an Seidenfäden angetrockneten Bakterien oder deren Sporen.

Seidenfäden mittlerer Dicke werden in etwa 1 cm lange Stücke zerschnitten, in einem mit Wattestopfen verschlossnen Reagensglase gesammelt und ½ Stunde bei 160 ⁰ oder 20 Minuten im strömenden oder gespannten Dampf keimfrei gemacht.

Demnächst nimmt man Kulturen auf schräg erstarrtem Agar oder Kartoffeln, die bei der zusagendsten Wärme zu reichlicher Entwicklung gekommen sind, überzeugt sich zuvörderst von der Reinheit durch die mikroskopische Untersuchung und legt sicherheitshalber noch ein Plattenkultur an; hat man es mit sporenhaltigem Material zu thun, so wartet man nach dem Erscheinen der Dauerformen noch einige Tage, um sie möglichst widerstandsfähig werden zu lassen. Dann wird

der auf der Oberfläche gewachsne Rasen vorsichtig mit dem Platindraht (Haken oder Oese) abgeschabt und im unten angesammelten Schwitzwasser verteilt; ist solches nicht vorhanden, so gibt man einige Tropfen sterilisierten Wassers ins Glas und schwemmt damit auf. Die Aufschwemmung wird nach Abglühen und Erkalten des Reagensglasrandes in ein zweites Kulturröhrchen übergefüllt und mit der hier gewachsnen Bakterienmasse vermischt, dann allenfalls noch in ein drittes, um sie möglichst dicht zu machen. Schliesslich giesst man sie in ein bereitstehendes sterilisiertes Doppelschälchen, legt die Seidenfäden hinein und tränkt sie mit Hilfe einer oder zweier sterilisierter Pinzetten, bis sie womöglich alle Flüssigkeit aufgenommen haben. Mit einer feinern, ausgeglühten Pinzette wird dann jeder Faden einzeln herausgenommen und getrennt, einer neben dem andern, in eine sterilisierte Doppelschale eingelegt. Die Fäden sollen nicht zu nass sein, damit die Trocknung rasch genug vor sich geht, und nicht etwa Sporen Zeit haben, wieder zu Stäbchen auszuwachsen. Die Trocknung kann im Brutschrank beschleunigt werden; am besten stellt man das Doppelschälchen mit gelüftetem Deckel in eine grosse Doppelschale, um die Wasserverdunstung zu beschleunigen. Sind die Fäden vollkommen trocken geworden, so werden sie mit einer ausgeglühten Pinzette der Reihe nach in ein sterilisiertes, mit Watte verschlossnes Reagensglas übertragen. Während dieser Zeit wird der Wattestopfen von einer federnden, z. B. Cornetschen Pinzette gehalten nebenhin gelegt, vorher der Rand des Reagensglases in der Flamme von etwa anhaftenden Wattefäserchen befreit und schliesslich kurz vorm Wiederaufsetzen der Wattepfropf in der Flamme oberflächlich abgesengt. Es ist peinlichst darauf zu achten, dass beim Abnehmen vom Boden der Schale keine Splitterchen oder ganze Fäden abspringen, unbemerkt auf den Tisch oder auf den Boden fallen und dort liegen bleiben; es muss vorkommenden Falles der Faden verbrannt, die Stelle, wo er lag, desinfiziert, am besten mit der Flamme abgesengt werden. Denn niemals darf Bakterienmaterial unachtsamerweise verstreut werden; selbst, wenn es sich um unschuldige, nicht pathogene Keime handelt, ist dieser Grundsatz zu befolgen, denn wer in einem Falle nicht reinlich arbeitet, thut es auch im andern nicht.

Die also getränkten Seidenfäden müssen sorgfältig vor Licht geschützt werden; bei voraussichtlich länger dauernder Aufbewahrung schliesst man auch den Zutritt der Luft durch Paraffin oder Abschmelzung aus.

Sporenfreie Bakterien, die das Austrocknen nicht vertragen, können selbstredend auf diese Weise nicht aufbewahrt werden. Erscheint es wünschenswert, sie an Seidenfäden haftend, dem Desinfektionsmittel auszusetzen, so hat dies bald nach der Tränkung zu geschehen.

Streptokokkenhaltige Seidenfäden z. B. bereitete sich v. Lingelsheim dadurch, dass er sie in den Bodensatz der Bouillonkultur legte, nachdem die überstehende Flüssigkeit bis auf etwa 2 ccm abpipettiert war. Die Fäden blieben 24—36 Stunden darin und wurden ungetrocknet zu den Versuchen genommen (Z. 10. 361).

Schon früher hat Fischel bei seinen Arbeiten mit dem Soorpilz die Fäden nach 2—3 Minuten langem Aufenthalt in einer vor Ver-

unreinigung sorgsam geschützten Aufschwemmung auf schräg erstarrten Agar übertragen, dann dem Brutschranke übergeben und sie, wenn dort bezeichnendes Wachstum erfolgt war, einzeln zu weitern Versuchen herausgenommen (F. 5. 665). Damit erhält man Seidenfäden, die von den Keimen förmlich durchwachsen sind. Dies Verfahren empfiehlt sich nur in gewissen, beschränkten Fällen, denn die Keime sind zu sehr dem Einflusse des zu prüfenden Mittels entzogen, was zu falschen Ergebnissen führen kann.

Die Anwendung der Seidenfäden hat auch ihre Gegner gefunden. Speziell für Versuche mit Sublimat wies Schäfer (B. 90. 50) darauf hin, dass es für die Seide eine Beize sei, darum sehr fest haften bleibe und sich auch durch nachfolgende Waschung nicht daraus entfernen lasse, wodurch der entwicklunghemmende Einfluss des Quecksilberchlorids eine Vernichtung der Sporen vortäuschen könne. Für derartige Fälle schlug Braatz Baumwollfäden vor, die diesen Nachteil nicht an sich hätten (C. 8. 8).

Die ganze Methode aber wurde von Geppert verworfen, weil sich an den Fäden — seien sie nun von Seide, Wolle oder Leinwand — ja selbst an glatten, porenfreien Dingen, wie Glas, Metall, ganze Schichten von Infektionsmaterial festsetzten, die dem Desinfektionsmittel den Zutritt zu den tiefer liegenden Keimen erschwerten. Der Einwand trifft nicht zu, wenn es die Lösung der Frage gilt, wie ein Mittel gegen die an festen Gegenständen, namentlich Kleidungsstoffen u. dgl. haftenden Kleinwesen wirkt. Wohl aber müssen wir ihn zurecht bestehen lassen für Untersuchungen, die die Biologie der Bakterien, ihr Verhalten für sich, desinfizierenden Mitteln gegenüber zum Gegenstande haben. Hier wird es sich empfehlen, dem Vorgange Gepperts folgend, die Mikroorganismen frei von allen andern Stoffen in wässrigen Aufschwemmungen möglichst einzeln verteilt zu prüfen. Geppert gibt nachstehende Anweisung (B. 89. 790):

Zunächst wird eine Aufschwemmung der betreffenden Kultur in sterilisiertem Wasser bereitet und stark geschüttelt. Sie wird dann auf ein Filter gegossen, der bequemern Sterilisierung halber aus Glaswolle. (Doch eignen sich auch im Dampf samt dem Trichter sterilisierte Filter von Papier. Heim.) Man filtriert am besten so, dass man zuerst die umfangreichern Bakterienklümpchen sich absetzen lässt, dann die Flüssigkeit durch ein ganz grobes Filter schickt, nachher durch engere, bis sie nur noch derart getrübt ist, dass sie, in ein Reagensglas gethan, immer noch gedruckte Buchstaben deutlich durchscheinen lässt. Enthält sie noch mit blossem Auge sichtbare Bestandteile, so wird sie nicht verwendet. Steht sie mehrere Stunden, so fallen häufig feine Flöckchen aus, die vorm Gebrauch abzufiltrieren sind.

In der Mitte etwa zwischen der Verwendung von getränkten Seidenfäden und von wässrigen Aufschwemmungen steht die Antrocknung der Keime an nicht durchtränkbare Stoffe, wie Stückchen dünnen Glases. Die Entstehung zu dichter Schichten kann man durch Verwendung der Geppertschen Aufschwemmungen vermeiden. Spirig (Z. 13. 19) nahm Deckgläser, die gereinigt und fettfrei gemacht, mit dem Diamanten in der Mitte entzwei geschnitten, sterilisiert in die

Aufschwemmung übertragen und zum Trocknen auf einem sterilisierten Drahtsieb unter eine Glasglocke (vor Licht geschützt) gelegt werden. Buttersack (K. A. 8. 366) arbeitete mit Glasfäden, wie sie sich mit Leichtigkeit über der Flamme ausziehen lassen.

Die Widerstandsfähigkeit der Bakterien gegen Austrocknung

lässt sich durch einfache Methoden ermitteln. Seidenfäden, Leinwandstückchen, Holz-, Glassplitterchen (je nach Massgabe der natürlichen Verhältnisse) werden mit den Bakterien getränkt oder in dünner Schichte bestrichen, und die Objekte entweder im Zimmer, oder bei Körperwärme, oder im Austrockner gehalten, jedenfalls immer vor Verunreinigungen geschützt. Nach verschieden grossen Zeiträumen erfolgt die Uebertragung auf passende Nährboden, die bei der zusagendsten Wärme gehalten werden müssen. Es ist durchaus nicht gleich für den Erfolg, ob die Austrocknung im Exsikkator (über Chlorcalcium oder Schwefelsäure) oder in gewöhnlicher Luft vor sich geht. Vielfachen Beobachtungen zufolge sterben die gegen Austrocknung empfindlichen Bakterien im Austrockner langsamer, d. h. später ab. Dieses scheinbar widersprechende Verhalten lässt sich mit Berckholtz (K. A. 5. 1) dadurch erklären, dass die schnell trocknenden äussern Bakterienschichten die tieferliegenden vor der Eintrocknung längere Zeit bewahren. Nach Guyon dagegen beruht der schädliche Einfluss der Luft nicht auf der Austrocknung, sondern auf ihrem Wassergehalt, der dem bakterientötenden Einfluss der Oxydation freies Spiel gewähre; es käme der Eintrocknung eine bakterientötende Wirkung nicht zu, im Gegenteil sogar eine erhaltende, und zwar nicht bloss gegenüber dem Sauerstoff, sondern auch gegenüber andern chemischen Schädlichkeiten, z. B. der Kohlensäure (H. 2. 1071).

Ein beim Studium der Krankheitserreger der Wirklichkeit besonders nahekommendes Verhältnis wird durch die Verwendung der die betreffenden Bakterien enthaltenden Auswurfstoffe der Kranken geschaffen. Hemden- und Wäschestücke, die mit dem Darminhalte Cholerakranker besudelt waren (Koch), Hände, die in Cholerastühle getaucht und längere Zeit geschützt gehalten wurden (Cornet), dienten als Versuchsobjekte, um die Lebensdauer der Vibrionen unter natürlichen Verhältnissen zu ergründen. Getrockneter Auswurf Lungenkranker wurde von Zeit zu Zeit in kleinen Mengen Wassers aufgeschwemmt und Meerschweinchen in die Bauchhöhle gespritzt (Cornet u. a.); Löffler liess Membranstücke diphtheritischer Belage trocknen und fand die Diphtheriebazillen in dickern Stücken nach 9—10, selbst nach 13—14 Wochen wenigstens vereinzelt noch lebensfähig (B. 90. 887).

Desinfektionsversuche mit Hitze

können in trockner heisser Luft, im strömenden und gespannten Dampf oder in Wasser von unterschiedlicher Wärme angestellt werden.

Die Prüfung des Verhaltens in trockner heisser Luft geschieht am besten mit bakterien- oder sporenhaltigen Seidenfäden. Es hat sich herausgestellt, dass die heisse Luft mindestens 160° haben muss, um binnen einer halben Stunde oberflächlich gelegne Milzbrand-

sporen zu töten. Ihre Anwendung in der Praxis ist aus zwei Gründen undurchführbar, weil gewisse, häufig zur Desinfektion kommende Dinge, wie Wäsche, Kleiderstoffe u. s. w., bei solcher Hitze angesengt und unbrauchbar werden; ferner, weil derartige schlechte Wärmeleiter die Eindringung der Hitze ins Innere von Bündeln und mehrfachen Lagen unmöglich machen und so den Erfolg vereiteln.

Bei allen für die Praxis berechneten Prüfungen von Desinfektionsapparaten sind nach dem Vorgange Kochs und seiner Schüler (K. M. 1. 301 und 322) die milzbrandsporenhaltigen Seidenfäden in dichte Lagen schlechter Wärmeleiter, wie Matratzen, wollene Decken u. dgl. neben einem Maximum- oder besser elektrischem Klingelthermometer zu verpacken, um 20—30 Minuten nach der Erreichung der erforderlichen Hitzegrade im Innersten der Bündel und nach Herausnahme aus dem Apparat teils auf Agarröhrchen oder in Gläschen mit Bouillon, die in den Brutschrank kommen, eingetragen, teils auf ein oder mehrere empfängliche Tiere (Mäuse, Meerschweinchen) überimpft zu werden.

Grössere Desinfektionsapparate für Krankenhäuser, Gemeinden etc. arbeiten jetzt ausschliesslich mit strömendem Dampf, dem gern ein geringer Ueberdruck von 1/10—1/5 Atmosphäre gegeben wird, um die Eindringungsdauer in dickere Lagen schlechter Wärmeleiter abzukürzen. Der Erfolg wird noch mehr gewährleistet, wenn der Dampf oben ein- und unten austreten kann, damit er die spezifisch schwerere Luft, statt sich mit ihr zu mengen, allmählich vor sich herschiebend leichter aus dem Apparat verdrängen kann; ferner ist es Rohrbeck gelungen, die Sicherheit der Desinfektion durch Einführung eines „Vakuumsystems mit Kondensation und Druckdifferenzen“ wesentlich zu erhöhen*). Von höher gespanntem Dampf, der qualitativ nicht mehr, nur in kürzerer Zeit die gewünschte Wirkung erzielt, muss man bei der Desinfektion im grossen absehen, da die Apparate zu teuer, zu schwer zu bedienen und der behördlichen Genehmigung unterworfen sind (kleine Apparate für gespannten Dampf zu Arbeiten im Laboratorium lassen sich nicht leicht entbehren).

Zur Prüfung der Leistungsfähigkeit von Desinfektoren legte man häufig neben die die Milzbrandsporen-Seidenfäden einschliessenden Paketchen welche mit Gartenerde, die bekanntlich sehr widerstandsfähige Sporen enthält. Das ist nicht notwendig; denn wenn die Dauerformen in der Gartenerde nach dem Aufenthalt im Apparate auch noch nicht abgetötet sind, so ist das kein Zeichen gegen seine Leistungsfähigkeit. Für unsre Zwecke genügt es, wenn Milzbrandsporen darin zu Grunde gehen. Nur muss man sich vorher der Güte des Materials versichern und seine Widerstandsfähigkeit in einem Laboratoriumsversuch (s. den nächsten Abschnitt) feststellen; Milzbrandsporen, die 1—2 Minuten im Dampftopf ausgehalten haben, sind hinreichend widerständig.

Für die Desinfektion der Wäsche und Kleider von Cholerakranken wurde gelegentlich der 1892er Epidemie wieder heisse Luft in Vorschlag gebracht, weil sie billiger zu haben und genügend zur Vernichtung der wenig widerstandsfähigen Choleravibrionen sei. Einen eignen Apparat wegen einer einzelnen Seuche anzuschaffen, der sonst und später zu

---

*) Siehe Rohrbecks Verzeichnisse über Desinfektoren und Sterilisatoren. Berlin NW. Karlstrasse 24.

nichts mehr gebraucht werden kann, ist schade ums Geld. Geht eine Gemeinde mit dem Plan der Anschaffung eines Desinfektors um, so soll sie bloss Apparate für strömenden Dampf oder Dampf mit dem oben erwähnten geringen Ueberdruck benützen. Am einfachsten sind die neben einer Heizanlage stehenden, von oben mit Dampf gespeisten Holzbottiche, wie sie in dem Preisverzeichnisse von Rietschel und Henneberg (Berlin S. Brandenburgerstrasse 18) abgebildet sind. Grössere Gemeinden werden sich vollkommnere Desinfektoren in eignen Gebäuden mit getrennten Räumen für undesinfizierte und desinfizierte Gegenstände, Kesselraum und Badegelegenheit für das Personal von irgend einer der genannten oder andern zuverlässigen Firmen (Schimmel & Co., Dresden, Budenberg-Dortmund, F. & M. Lautenschläger-Berlin u. a.) einrichten lassen, daneben aber zweckmässigerweise sich noch einen oder einige kleinere Apparate zulegen, um bei ruhigern Zeiten nicht die Kosten für Anheizung und Bedienung des grossen zu haben und sie dem Publikum wegen einer vielleicht einzelnen Desinfektion aufrechnen zu müssen.

Nun noch einige Worte über den Unterschied der Wirkung des gespannten und überhitzten Dampfes. Am förderndsten für das Gelingen jeder Desinfektion ist die Gegenwart von Wasser; das gilt auch für die Desinfektion mit Chemikalien, nicht bloss für die mit Hitze. Das Wasser schliesst die Sporenmembran auf und gestattet so dem Desinfektionsmittel den Eintritt ins Zellinnere. Deshalb wirkt trockne heisse Luft von 150° noch nicht genügend, und darum ist ihr der strömende Dampf von 100° weit überlegen. Benützen wir gespannten Dampf von über 100°, so haben wir bei richtiger Anordnung und Beachtung gewisser Vorsichtsmassregeln (gegen Ueberhitzung der Kesselwand und Verbleib von Luft im Binnenraum) eine der jeweiligen Temperatur entsprechende Sättigung mit Wasserdampf, die, wenn nicht absolut, so doch ganz annähernd, 100% relativer Feuchtigkeit entspricht, — somit die bestmögliche Wirkung. Steigert man jedoch die Hitze des Dampfes, ohne gleichzeitig im entsprechenden Masse seinen Wassergehalt zu vermehren, wie es z. B. der Fall ist, wenn wir ihn über glühende Flächen oder durch heisse Röhren leiten (v. Esmarch, Z. 4. 197), so wird er dabei fortwährend trockner, verliert somit an desinfizierender Kraft und nähert sich in seinen Eigenschaften immer mehr der trocknen, heissen Luft.

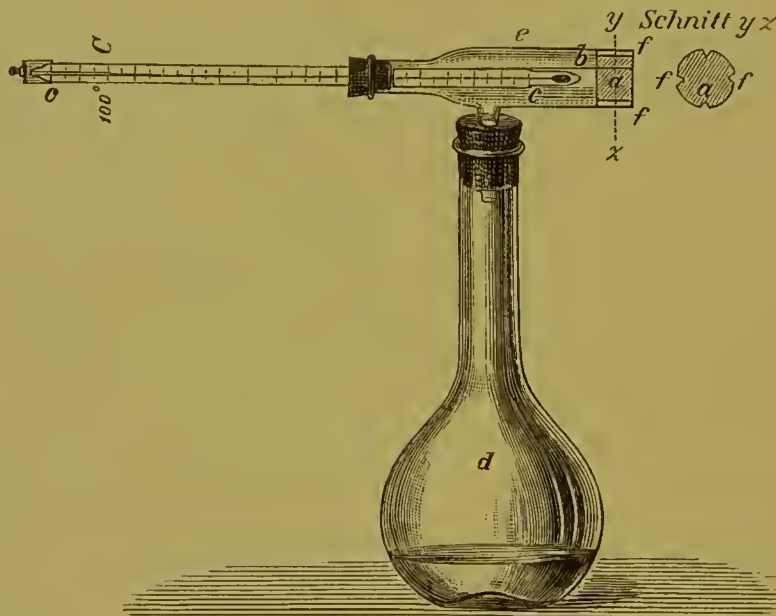
Die **Prüfung der Widerstandsfähigkeit** von Bakterien (Sporen) gegenüber strömendem Dampf führen wir im Kochschen oder Budenbergschen Dampftopf aus und benützen dazu im allgemeinen damit getränkte Seidenfäden.

Je 2—3 von ihnen werden in ein Beutelchen von einfacher Lage Mull gethan, das oben zusammengeschnürt oder durch eine kleine Klemme (Fig. 35a S. 28) zusammengehalten wird. An einem längern Faden befestigt, werden sie entweder unter geringer Lüftung des Deckels zwischen ihm und der Wand des Dampfcylinders, oder durch die für das Thermometer angebrachte Tubulatur (falls sie genügend weit ist) bis etwa zur halben Höhe des Binnenraumes eingeführt. Das geschieht, wenn das Thermometer die Siedehitze anzeigt, die bekanntlich je nach dem Barometerstand in verschieden hoch gelegnen Orten verschieden ist.

Nach einer im Plane bestimmten Frist (nach ½, 1 oder mehreren Minuten) werden sie auf demselben Wege wieder herausgenommen. Sollen mehrere Beutelchen gleichzeitig eingeführt, aber zu verschiednen Zeiten herausgenommen werden, so empfiehlt sich die Befestigung an dünnen Drähten statt an Fäden, die sich zu leicht verwirren.

Während der ganzen Versuchsdauer muss die Dampfentwicklung durch einen recht ausgiebigen Brenner möglichst reichlich gemacht werden, damit die Lüftung des Deckels oder des Stopfens, die immer mit der von einem umgewickelten Tuch oder von einem wollenen Handschuh geschützten Hand vorgenommen wird, keinen Rückgang der Wärme im Innern des Cylinders bedingen kann. Alsbald wird wieder gut verschlossen. Dann legt man das Paketchen auf eine sterilisierte Glasplatte, öffnet es vorsichtig mit desinfizierten Fingern, nimmt die Fäden mit geglühter, erkalteter Pinzette heraus und überträgt sie auf Agar oder Bouillon, um bei Brutschrankwärme etwaiges Auswachsen zu fördern. Die Proberöhrchen sind genau zu bezeichnen; ins

Fig. 114.



Protokoll sind die Bemerkungen über das Ausgangsmaterial, seine Gewinnung, die wievielste Generation nach dem Durchgang durchs Tier, oder nach der ersten Reinzüchtung, wie lange im Brutschrank oder im Zimmer gezüchtet u. s. w., einzutragen.

Eigens für solche Versuche kann man sich auch einen kleinen Dampfapparat mit den nötigen Oeffnungen u. s. w. herstellen. Ohlmüller nahm einen nicht zu kleinen Kolben d mit nebenstehender Austattung, der zur Dampferzeugung diente (Fig. 114). Während das darin befindliche Wasser zum Kochen kommt, wird der Kork a herausgenommen und die zu prüfenden Objekte werden auf ein in ihm befestigtes Tischchen aus feinem Drahtgewebe gelegt. Dann fasst man den Kork mit den rund ausgeschweiften Armen einer Tiegelzange und bringt ihn, sobald das Thermometer den Siedepunkt zeigt, an seine Stelle, so dass die Prüfungsobjekte gerade über der Quecksilberkugel des Thermometers sich befinden. Vier Einschnitte (f) im Kork ge-

statten dem Dampfe den Austritt. Nach beliebiger Zeit nimmt man das Bakterienmaterial zur Ueberimpfung wieder heraus (K. A. 8. 238).

Sollen Wärmegrade über 100° erzielt werden, so lässt sich durch Salzlösungen eine Steigerung um einige Grad erzielen. Doch ist das nur ein Notbehelf, besser ist immer ein Digestor. Wegen der Bedienung der Autoklaven, der Festschraubung des Deckels u. s. w. gestalten sich freilich die Desinfektionsversuche nicht so einfach, wie beim gewöhnlichen Dampftopf. Es lässt sich ferner immer nur mit einer Probe arbeiten, man braucht demzufolge auch mehr Zeit. In einer anzufertigenden Tabelle ist zu notieren: Herkunft und Art des Materials, Zeit der Einlegung, Ansteigung des Druckes und der Temperatur im Kessel, Augenblick des Abblasenlassens des Dampfes und des Ablöschens der Flamme, endlich der Herausnahme der Probe. Nur gute Apparate eignen sich zur Verwendung, die wirklich gespannten Dampf, nicht überhitzten haben. Am besten lässt sich eine Ueberhitzung des Dampfes an der Kesselwand durch Verwendung des Gartrellschen Dampfdruckreglers vermeiden; mit zunehmender Hitze und Dampfspannung wird die Flamme so klein, dass, wenn sie nur genau unter der Mitte des Bodens steht, eine Ueberhitzung des Kessels vermieden wird. Auch die genaue Bestimmung der im Apparate herrschenden Temperatur ist nicht ganz einfach; meist genügt es, nach den Anzeigen des Regulators sich zu richten; will man aber die Temperatur sicher wissen, so muss ein Thermometer eingeführt werden, wozu die neuern Apparate mit einer verschraubbaren, dampfdicht zu verschliessenden Tubulatur versehen sind (S. 58).

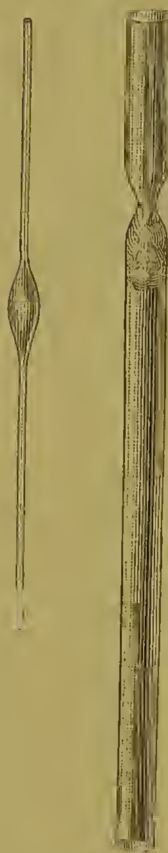
Statt im Dampfapparate kann man unmittelbar im siedenden Wasser prüfen. Geppert, der gegen die Seidenfäden mit ihrer oft dick anhaftenden Bakterienschichte den Vorwurf erhebt, dass ihre Erweichung im Dampftopf zu lange Zeit erfordere, gibt in kleine Porzellantiegel 5 ccm Wasser, in das nach Erreichung des Siedepunktes zwei Sporenseidenfäden geworfen werden. Nach ½ Minute werden 10 ccm kalten Wassers zugegossen, um das Sieden solange zu unterbrechen, dass die Seidenfäden zur Ueberimpfung herausgenommen werden können. Siedet dann das Wasser wieder, so wirft man zwei neue Fäden hinein, setzt diesmal erst nach 1 Minute das kalte Wasser zu und verfährt wie vorhin in bestimmten, für jeden einzelnen Versuch geplanten Zeitabschnitten (D. 91. 827). Soll aber das Wasser in Anbetracht stundenlanger Dauer mancher Versuche anhaltend im Sieden bleiben, so verpackt man die Seidenfäden zugleich mit einem im Autoklaven sterilisierten Steinchen in Mullbeutelchen, versenkt sie in einen Kolben mit siedendem Wasser und zieht sie zur geplanten Stunde an dem daran befestigten Faden heraus (Heim und Stammler).

Statt der Seidenfäden lassen sich mit Geppert auch Sporenemulsionen und etwas grössere Wassermengen verwenden, etwa 1 : 30 ccm; dann wird die Siedehitze nicht durch Eingiessung von kaltem Wasser unterbrochen, sondern man macht von Zeit zu Zeit mit Pipetten Entnahmen (ca. 2—3 ccm), die alsbald in sterilisiertes, kaltes Wasser eingetragen werden, woraus die Infizierung von Nährboden oder Tieren erfolgt. Währt die Erhitzung länger, so muss für Ersatz des ver-

dampften Wassers durch fortwährenden tropfenweisen Zufluss gesorgt werden. Ist es aber geboten, dass die Menge im Kolben stets möglichst gleich bleibt, wie dies bei kochenden Salzlösungen mit bestimmtem Gehalt an Soda, Kochsalz o. dgl. erforderlich wird, so muss der Kolben mit einem Rückflusskühler verbunden werden, was die jeweiligen Probeentnahmen ziemlich umständlich macht, und wobei sich kaum vermeiden lässt, dass die Flüssigkeit einmal für einige Augenblicke aus dem Sieden kommt (Heim und Stammler).

Bei Erhitzungsversuchen unterhalb des Siedepunktes mit nicht sporenbildenden Bakterien hat man Kulturröhrchen in einen Topf mit Wasser von der bestimmten Wärme gestellt und von Zeit zu Zeit Ueberimpfungen aus der dergestalt erhitzten Bouillon- etc. Kultur auf frische Nährboden oder aufs Tier gemacht. Eine Fehlerquelle dabei ist die Schwierigkeit, eine zu lange Eindringungsdauer der Wärme in die Kulturlösung zu vermeiden. Ich habe es daher bei meinen im Kaiserlichen Gesundheitsamte angestellten Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit der Bakterien der blauen Milch, ferner des Schweinerotlaufs, der Schweineseuche und Schweinepest vorgezogen, mit so kleinen Mengen bakterienhaltiger Flüssigkeit zu arbeiten, dass eine möglichst augenblickliche Durchwärmung gewährleistet war. Ich gebe hier eine genauere Beschreibung dieser, meiner

Fig. 115.



Lymphröhrchenmethode. Ein Glasrohr von etwa 4 bis 5 mm im Lichten wird nahe einem Ende über der Flamme des Bunsenbrenners erhitzt und nach Erweichung ausserhalb der Flamme zu einem etwa 5—6 cm langen Haarröhrchen ausgezogen. Jenseits der ausgezognen Stelle wird abermals erhitzt und eine zweite Kapillare ausgezogen; das setzt man so lange fort, als die Spannweite der Arme zum Ausziehen der Haarröhrchen reicht. Dann schneidet man mit einer Schere an den verschiednen Stellen ab, so dass die in der Mitte eine ampullenförmige Erweiterung tragenden Röhrchen eine Länge von etwa 12 cm haben. Diese sog. Lymphröhrchen werden in grösserer Anzahl in einer Blechkapsel 1/2 Stunde bei 160° im Trockenschrank sterilisiert.

Inzwischen schneidet man von der ursprünglichen Glasröhre ein etwa 18 cm langes Stück ab, rundet die scharfen Enden in der Flamme ab und bringt etwa 3 cm vom einen Ende eine Einschnürung an (Fig. 115). Das kürzere Ende darf mit keinem andern Gegenstande des Laboratoriums, auch nicht mit den Fingern in Berührung kommen, da dieses Saugröhrchen später wiederholt in den Mund genommen werden muss. Ins längere Ende bringt man ein Pfröpfchen nicht entfetteter Watte und schiebt es mit einem Draht bis zur verengten Stelle hinauf. Ferner richtet man sich her:

Einige Pinzetten, eine Schale mit Sublimat-, Karbol- oder dgl. Lösung und etwas Watte darin (zur Desinfektion der Finger), ein oder mehrere Glasbänkchen, auf die später die gefüllten Lymphröhrchen zu liegen kommen, und darunter eine oder einige sterilisierte Glasplatten, eine kleine Bunsenflamme (Reischauerschen Mikrobrenner) und eine dahinter senkrecht aufgestellte Platte von Glas oder Blech. Endlich noch das Gläschen mit der zu prüfenden Bouillonkultur.

Von der sterilisierten Blechbüchse wird der Deckel abgenommen, und diese selbst so auf den Rand eines Blockes oder des Tisches gelegt, dass die Lymphröhrchen bequem mit einer geglühten Pinzette gefasst werden können. Dann wird das erste Röhrchen herausgenommen und in das seines Wattepfropfens entledigte Kulturgläschen eingeführt; die andre Hälfte des Lymphröhrchens steckt bis zur ampullenförmigen Erweiterung im Saugröhrchen und wird mit den Fingern leicht

an diese gedrückt. Nun saugt man vorsichtig so lange, bis das Lymphröhrchen fast gefüllt und nur noch oben ein Endchen von etwa 2 cm leer ist, was man schon bei geringer Uebung leicht fertig bringt. Sind die Haarröhrchen dünn genug, so kann man sie herausnehmen, ohne dass von ihrem Inhalt etwas ausfliesst. Sie werden dann, nachdem auch das Saugröhrchen beiseite gelegt ist, bis etwas über horizontal gehalten, so dass auch am untern Ende ein etwa 1 cm leerer Raum entsteht. Während man sie in der Mitte fasst, schmilzt man erst das eine, dann das andre Ende an der Flamme ab; man soll nicht weiter als bis eben an den Rand der kleinen Flamme gehen. Haftet an einem Ende noch etwas Kulturflüssigkeit, so schiesst das Tröpfchen heraus; deshalb richtet man die Kapillare gegen die oben erwähnte senkrecht aufgestellte Platte, die etwa verspritzte Flüssigkeit auffangen soll. (Sie wird später ausgekocht, der Tisch mit Sublimatlösung gescheuert, oder mit der Flamme abgesengt.) Ist noch etwas Flüssigkeit aussen am Röhrchen hängen geblieben, so nimmt man sie mit demnächst zu verbrennendem Fliesspapier ab. Dann legt man das Lymphröhrchen quer auf die Glasbank. Angefasst werden die Haarröhrchen entweder mit der Pinzette oder mit in Sublimatlösung getauchter und wieder ausgedrückter Watte.

Der Erhitzungsversuch selbst wird in einem grössern Wasserbade ausgeführt (Fig. 14 S. 21). Der Topf bekommt einen durchlöcherten Einsatz mit 1—2 cm hohen Füsschen und wird mit mehrern Litern reinen, am besten destillierten Wassers fast ganz gefüllt, mit einem Bunsenbrenner, dessen Flamme leicht regulierbar ist (Drahtnetzkappe oder wenigstens Luftregulierungshülse!), erwärmt und mit den ringförmigen Einsätzen zugedeckt; nur in der Mitte bleibt ein Loch frei, wodurch das an einem Stativ befestigte Thermometer eingesenkt wird. Dieses soll einen langen Stiel haben und, womöglich in halbe Grade geteilt, recht genau zeigen; sein Quecksilbergefäss reicht bis zum Einsatz, dicht daneben werden ein oder mehrere gefüllte Lymphröhrchen gelegt, sowie das Wasser die bestimmte Wärme (zuerst gewöhnlich 50°) erreicht hat. Gleichzeitig sieht man nach der Uhr und notiert die Zeit. Die Grösse der Flamme muss während der Erwärmungsdauer unter ständiger Beobachtung so geregelt werden, dass die Temperatur gleich bleibt, was unter 80° leichter gelingt, als darüber. Nach 10 Minuten, wenn nicht anders geplant, nimmt man mit einer langen Pinzette oder Tiegelzange ein oder mehrere Röhrchen heraus, legt sie auf eine sterilisierte Glasplatte und trocknet sie vor der nun folgenden Verimpfung mit Fliesspapier ab.

Ein leerer Topf steht bereit. Man hält die Lymphröhrchen hinein und bricht beide Enden mit geglühter Pinzette ab; die abspringenden Glasstückchen fallen in den Topf; später werden auch die leeren Haarröhrchen hineingeworfen, mit Wasser übergossen und ausgekocht. Nun steckt man die eine Hälfte der Kapillare in die Saugröhre und bläst den Inhalt teils auf die Oberfläche von Nähragar in ein Kulturdoppelschälchen, teils in Bouillon, bei nicht krankheitserregenden Bakterien in verflüssigte Gelatine, die zum Rollröhrchen verarbeitet wird. Die Proben werden vor Licht geschützt bei der zusagendsten Wärme gehalten. Etwa vorhandne andre erwärmte Lymphröhrchen dienen zu einem allenfallsigen Tierversuch; nach Eröffnung wird ihr Inhalt an der der Kanüle entgegengesetzten Seite in eine Spritze geblasen und mit dieser einem geeigneten Versuchstiere einverleibt.

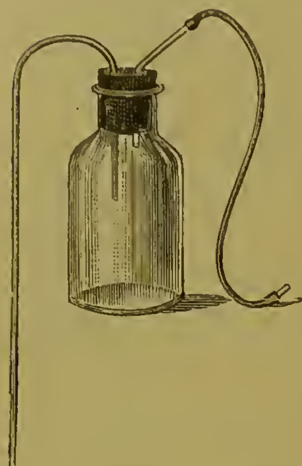
Unterdessen hat man Sorge getragen, dass das Wasser im Topf um weitere 10° erwärmt wurde. Denselben Versuch macht man mit 60, 70, 80, 90 und 100°. Am besten aber lässt man erst einen Uebersichtsversuch mit grössern Zwischenräumen vorangehen, um überflüssige Steigungen in kleinen Intervallen zu ersparen. Niemals darf der Kontrollversuch mit der nicht erhitzten, sonst in gleicher Weise behandelten Kultur versäumt werden. Das Protokoll wird tabellarisch geführt. Ein derartiger Versuch nimmt 4—5 Stunden Zeit in Anspruch.

Ein andres Verfahren, das ich einschlug, um zu erfahren, wann Tuberkelbazillen in erhitztem Auswurf absterben, ist folgendes:

In einem grössern, zur Aufnahme von 20 Spuckschalen bestimmten, im untern Abschnitt mit Wasser gefüllten, über Herdfeuer gesetzten Topf (Fig. 124) wurde die Tubulatur in der Mitte des Deckels 3 cm weit gemacht, mit einem dreifach durchbohrten Stopfen verschlossen und nicht zu weit darunter im Innern eine Schale mit tuberkelbazillenhaltigem Auswurf aufgestellt. Durch eine der drei Bohrungen ging

ein Thermometer, das im Innenraum des Topfes endigte, ein andres, durch das zweite Loch geführt, reichte bis in den Auswurf, um die Unterschiede des Wärmeanstiegs im Topf und im Sputum verfolgen zu können. Das dritte Loch im Stopfen war für gewöhnlich mit Watte verschlossen und zur Ermöglichung der Entnahme von 3—5 ccm des Auswurfs zu verschiedenen Zeiten (bei 50°, 60° u. s. w.) bestimmt. Als Entnahmegefässe dienten kleine Fläschchen mit weitem Halse (Fig. 116), versehen mit doppelt durchbohrtem Stopfen. Durch das eine ging ein U-förmig gebognes, aussen zu langem Schenkel sich fortsetzendes Rohr, das bis in die Spuckschale geführt werden konnte. Am andern, kurzen Röhrchen war ein Gummischlauch zum Saugen befestigt. So liessen sich einwandfrei in beliebigen Augenblicken Proben gewinnen, die sowohl auf Glyzerinagarplatten ausgesät, als auch Meerschweinchen in die Bauchhöhle gespritzt wurden. Ein Kontrolltier war mit frischem Auswurf geimpft worden und erlag der Tuberkulose. Bei Wärmegraden über 70° erwiesen sich die Tuberkelbazillen abgetötet (Deutsche militärärztl. Zeitschr. 93. 49).

Fig. 116.



Versuche über das Verhalten von Bakterien gegen Kälte

werden mit flüssigen oder festen Kulturen oder Aufschwemmungen gemacht. Im allgemeinen verfährt man nach den gewöhnlichen Regeln. Was die Erzielung des Gefrierpunktes anbelangt, so ist sie natürlich am einfachsten im Winter. Wichtig ist, dass man nicht bloss Frost allein einwirken lässt, sondern auch den Einfluss wiederholten Gefrierens und Wiederauftauens bestimmt. Steht Schnee zur Verfügung, so kann man sich im Laboratorium eine Kältemischung künstlich durch Vermengung gleicher Gewichtsteile von Schnee und Kochsalz herstellen; die Temperatur sinkt bis — 21°,3; ein Gemisch von 1 Teil Schnee und 3 Teilen krystallisiertem Chlorcalcium erniedrigt die Temperatur auf — 33°, mässig verdünnte Schwefelsäure auf Schnee gegossen, sogar auf — 40 und — 50° C. Nach Rüdorff geben 150 Teile Schwefelcyankalium in pulverisierter Form mit 100 Teilen Wasser gemischt bei der in höchstens 1 Minute erfolgenden Auflösung eine Temperaturerniedrigung von — 34°,5; dieses Salz bietet zugleich den Vorteil, dass es durch Eindampfung der Lösung ohne erheblichen Verlust wieder gewonnen und zu neuen Versuchen benützt werden kann. Weitere Kältemischungen sind (nach Behrens Tabellen):

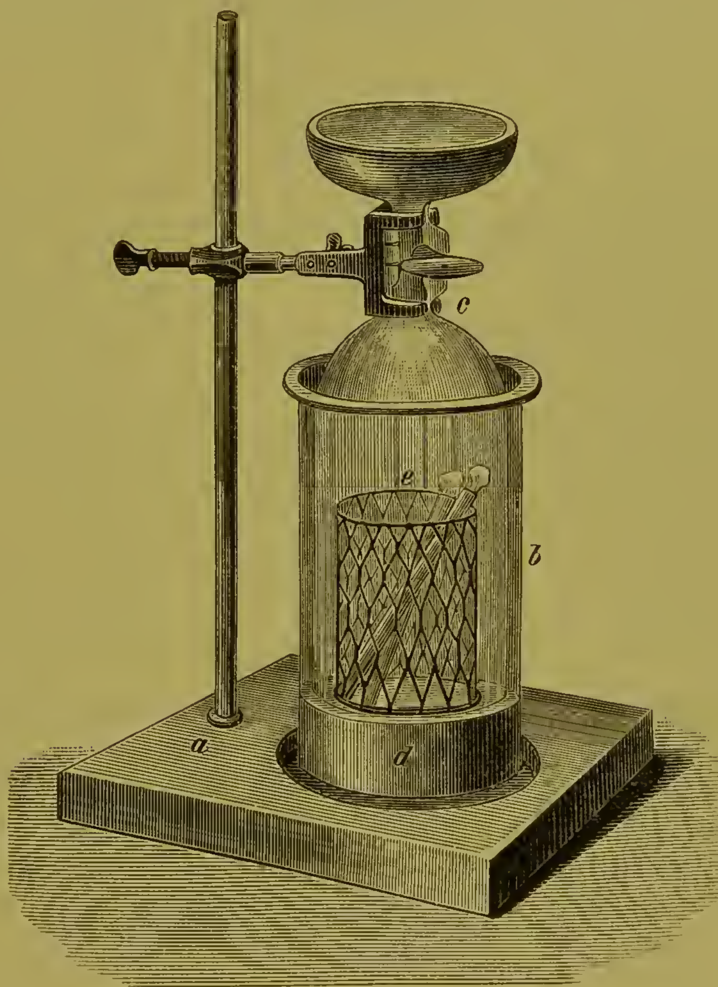
3 Glaubersalz + 2 verdünnte Salpetersäure	— 10° C.
6 Ammoniumnitrat + 10 Wasser	— 10°
1 Chlorkalium + 4 Wasser	— 11°,8
5 Salmiak + 5 Salpeter + 8 Glaubersalz + 16 Wasser	— 15°,5
8 Glaubersalz + 5 konzentrierte Salzsäure	— 17°
1 Kochsalz + 3 Schnee	— 21°
1 Salmiak + 1 Salpeter + 1 Wasser	— 24°

Niedere Wärmegrade von 0—5°, noch leichter von 5—10° erzielt man in guten Eisschränken.

Erhöhter Druck.

Schon bei einem Drucke von 4 cm Quecksilber konnten Klebs und Studer (auch bei hinreichender Lufterneuerung) in Aussaaten von Milzbrandbazillen auf schräg erstarrtem Nähragar ein teilweises Ab-

Fig. 117.



sterben der eingebrachten Keime und eine Einbusse des Längenwachstums der entwickelten Stäbchen feststellen.

Der dazu benützte Apparat (Fig. 117) bestand aus einem cylindrischen Gefäss b, das zum Teil mit Quecksilber d gefüllt war. Auf die Oberfläche des Quecksilbers wurde, auf einem eisernen Untersatz ruhend, ein Drahtkorb mit den Kulturen e gestellt und darüber eine Glasglglocke c von engerm Durchmesser, wie dem des Cylinders, gestülpt, die mit einer, an dem vom ganzen Apparat beschwerten Stativ a angebrachten Halteklemme höher oder tiefer eingestellt werden konnte. An ihrem obern Ende trug die Glocke einen trichterförmigen Aufsatz, der durch einen eingeschliffnen Hahn mit ihrem Innern in Verbindung gesetzt werden konnte; er diente teils zur Reglung des Luftdrucks

im Innenraum, teils zur Erneuerung der Glockenluft, teils zur Entnahme von Proben aus ihr*).

Mit zunehmendem Drucke macht sich der Einfluss auf die Bakterien in noch deutlicherer Weise geltend: Chauveau (J. 1. 56) gewann abgeschwächte Kulturen von Milzbrandbazillen, die Meerschweinchen töteten, für Schafe, Rinder, Pferde aber nahezu unwirksam waren, durch Züchtung bei 38—39° unter gleichzeitigem Drucke von 8 Atmosphären, erzeugt durch verdichteten Sauerstoff. Bei 12 Atmosphären wurden die Bazillen getötet. Druck von 40—50 Atmosphären, hervorgerufen durch flüssige Kohlensäure, fand D'Arsonval geeignet zur Sterilisierung von Bac. pyocyaneus u. a.; namentlich bei längerer Dauer unter gleichzeitiger Verwendung einer Wärme von 40° vermöge ihm kein lebendes Wesen zu widerstehen (Cr. 9. 831; 14. 64).

Licht.

Untersuchungen über die Einwirkung des Lichts in seiner Gesamtheit, sowie einzelner Strahlensorten des Spektrums wurden mittels verschiedner Methoden studiert, die ich bei ihrem ganz speziellen Interesse aufzuzählen unterlasse, zumal die Uebersicht Raums über den Stand unsrer diesbezüglichen Kenntnisse (Z. 6. 312) jedem Forscher leicht zugänglich ist. Auch verweise ich auf die eingehenden Studien Janowskis über die Wirkung des Sonnenlichts gegenüber Typhusbazillen, sowie auf Pansini (Cr. 8. 107), Santori (Cr. 8. 737), Duclaux (P. 4. 232 u. 792) und Geisler (C. 11. 161).

Dass direktes Sonnenlicht selbst sehr widerstandsfähige Keime binnen verhältnismässig kurzer Zeit zu töten vermag, ist durch verschiedne Beobachtungen bewiesen. Nach Koch gehen Tuberkelbazillen unter seinem Einflusse, je nach der Dicke der Schicht, in wenigen Minuten bis einigen Stunden zu Grunde und Kulturen erweisen sich im diffusen Tageslicht, dicht am Fenster befindlich, binnen 5—7 Tagen abgestorben. Nach Arloing reichte eine zweistündige Besonnung aus, um die Lebensfähigkeit von Milzbrandsporen gänzlich zu vernichten. Wir werden deshalb in unsern Arbeitsstätten die Bakterien und deren gelöste Stoffe stets vor Licht geschützt aufbewahren müssen. Denn dass auch jene Stoffe von dem gleichen Einflusse schädlich betroffen werden, geht aus den Beobachtungen von Kitasato (Z. 10. 285) u. a. hervor, denen zufolge das den Tetanusbazillen eigne Gift vom direkten Sonnenlicht in 15—18 Stunden gänzlich, und vom zerstreuten Tageslicht in 9—10 Wochen fast vollständig unwirksam gemacht wurde.

Eine sehr anschauliche, leicht nachzuahmende Anordnung rührt von Buchner (A. 17. 179) her: Nähragar wird durch Kochen verflüssigt, bei 40° gekühlt und mit einer bestimmten Bakerienart geimpft, die Aussaat gleichmässig verteilt, und die Agarlösung in ein Doppelschälchen gegossen. Nach eingetretner Erstarrung befestigt man ein Kreuz oder Buchstaben aus schwarzem Papier an der Unterfläche,

---

*) Klebs, Die allgemeine Pathologie. I. Teil. Jena bei G. Fischer 1887, S. 104 und 131.

die zu diesem Zweck nach oben gerichtet, 1—1 1/2 Stunden dem direkten Sonnenlicht oder für 5 Stunden dem zerstreuten Tageslicht ausgesetzt wird. Danach überlässt man die Platte an einem dunkeln Ort ihrer Entwicklung. Nach 24 Stunden erscheinen die aufgeklebten Buchstaben od. dgl. vollkommen scharf, gebildet von den ausgekeimten Kolonien, während der ganze übrige Teil der Platte steril geblieben ist. Um ganz scharfe Bilder und Konturen zu erhalten, muss man die Platte stark besäen, damit die entstehenden Ansiedlungen dicht gedrängt und klein bleiben. Schon 10 Minuten dem Licht ausgesetzt gewesene Schalen lassen eine Entwicklungshemmung der Bakterien erkennen. Auch Agarplatten, die am Grunde eines 0,5 m tiefen Wasserbehälters dem Sonnenlicht ausgesetzt worden waren, zeigten sich in gleicher Weise beeinflusst.

Elektrizität

war hinsichtlich ihrer Wirkung auf Kleinwesen besonders in den letzten Jahren Gegenstand mehrfacher Studien. Die Technik ist im allgemeinen einfach, indem beide Pole unter Bestimmung der Stromstärke und der Zeitdauer in die bakterienhaltige Flüssigkeit eingesenkt werden. Hinsichtlich der Einzelheiten und der erhaltnen Ergebnisse verweise ich u. a. auf:

Spilker und Gottstein (C. 9. 77), Fermi (Cr. 11. 23), Verhoogen, Burci und Frascani (Cr. 12. 492), Watkins (H. 2. 734), F. Winkler und J. Fischer (Cr. 13. 831), D'Arsonval und Charrin (H. 3. 673), Krüger (Zeitschr. f. klin. Med. 22. 1).

Desinfektionsversuche mit Chemikalien

sind ungleich mühevoller und verwickelter wie solche mit Hitze.

Die Umgebung, in der sich die Bakterien unter natürlichen Verhältnissen befinden, ist, selbst wenn es sich um dünne Schichten handelt, von chemischen Mitteln weit schwieriger zu überwinden. Das Vorhandensein von Wasser ist, wie gesagt, auch hier eine Hauptbedingung für den Erfolg. Eine wesentliche Rolle aber spielt neben der physikalischen die chemische Beschaffenheit des zu desinfizierenden Objekts. Sie kann die Wirkung des Desinfektionsmittels teilweise beeinträchtigen oder ganz vereiteln; als ein Beispiel von vielen nenne ich nur die Unzulänglichkeit des Sublimats als bakterientötendes Mittel in schleim- und eiweisshaltigen Flüssigkeiten.

Es ist ein oft angeführter Erfahrungsatz, dass Ergebnisse des Laboratoriumsversuches im Reagensglase nur mit Vorbehalt auf die Praxis übertragen werden dürfen. Gerade bei den Desinfektionsversuchen mit Chemikalien tritt er in sein Recht.

Es ist ein Verdienst Behrings, darauf hingewiesen zu haben, dass, wenn wir einen Aufschluss über die Wirkung von chemischen Mitteln auf die im Körper befindlichen Bakterien haben wollen, wir zum mindesten ein der Körperflüssigkeit ähnlich zusammengesetztes Mittel zu den Untersuchungen benützen müssen; können wir darin auch nur eine Entwicklungshemmung der Bakterien beobachten, so sind wir schon den Verhältnissen im Organismus nahe gekommen, da ein

am Auskeimen verhinderter lebender Krankheitserreger im Körper ebensowenig Schaden anzurichten imstande ist, wie eine nicht pathogene Art.

Für den Ausfall ist ferner von wesentlichem Belang, bei welcher Temperatur die Einwirkung eines Mittels auf die Bakterien stattfindet. Nach Henle (A. 9. 188), Behring u. a. ist nämlich der Desinfektionseffekt um so hervorstechender, je höher die dabei angewendete Wärme ist. Schon bei 37° macht sich dieser Einfluss geltend, noch mehr bei höhern Wärmegraden. So fand Heider (C. 9. 221) Milzbrandsporen in 5%iger Karbolsäurelösung bei Zimmertemperatur nach 36 Tagen lebensfähig, aber bei gleichzeitiger Einwirkung von 55° schon nach 1—2 Stunden, von 75° bereits nach 3 Minuten abgetötet*).

Zum Dritten ist nicht ausser acht zu lassen, dass die Widerstandsfähigkeit derselben Bakterienart in verschiednen Kulturen und unter verschiednen Verhältnissen anders ist. Das ist sowohl für Sporen (beim Milzbrand von v. Esmarch Z. 5. 67), wie für vegetative Formen (beim Staphylokokkus aureus von Gruber C. 11. 115) nachgewiesen. Auch die Zahl der Bakterien, auf die das betreffende Mittel einwirken soll, kommt in Betracht; nach Boer (Z. 9. 486) sind im allgemeinen — Ausnahmen abgerechnet — grössere Mengen der Mittel erforderlich gewesen, um in 24 Stunden alten Bouillonkulturen die Abtötung zu bewirken, als in frisch geimpften.

Endlich ist noch eines wichtigen Umstandes zu gedenken. Wenn man die im Versuch stehenden Bakterien der Einwirkung eines chemischen Mittels entzieht, so bleiben unvermeidlich grössere oder geringere Mengen davon an ihnen haften, die notwendig vor der Aussaat auf oder in Nährmedien beseitigt werden müssen. Geppert richtete darauf das Augenmerk und hob hervor, dass, selbst wenn die Bakterien oder deren Sporen durch das Desinfektionsmittel noch nicht abgetötet sind, sie doch derart vergiftet sein können, dass ihre Lebensäusserungen vermindert bleiben. Mit Sublimat z. B. behandelte Milzbrandsporen vermögen, auch wenn sie noch lebensfähig sind, auf einem Nährboden mit einem Gehalt von 1 : 200 000 Sublimat nicht mehr fortzukommen, während normale Milzbrandsporen darauf noch auszukeimen imstande sind (D. 91. 797).

Auf jene Verminderung der Lebensäusserungen nach dem Aufenthalte von Bakterien in wirksamen Mitteln ist, auch wenn alle Vorsichtsmassregeln zur Beseitigung ihrer letzten Spuren angewendet wurden, wohl zu rücksichtigen. Es kann nicht eindringlich genug auf die Forderung hingewiesen werden, dass die mit einem Desinfektionsmittel behandelten und dann zur Kultur angesetzten Proben unter den besten Bedingungen, namentlich auch bei der zusagendsten

---

*) Es ist durchaus nicht als eine Ausnahme von dieser Regel anzusehen, wenn, wie Behring (Z. 9. 398) nachwies, Sublimat in Nährgelatine bei Zimmertemperatur schon in der geringen Konzentration von 1 : 400 000 wachstumbehindernd auf Milzbrandbakterien wirkt, während bei 36° eine Behinderung ihres Wachstums erst bei einem Gehalt von 1 : 100 000 beginnt. Bei Körperwärme ist eben den fraglichen Bakterien eine viel grössere Wachstumsenergie eigen, als bei Zimmertemperatur; wachstumschädigende Einflüsse überwinden die Bakterien leichter bei der ihnen zusagendsten Wärme. Auch ist das wieder ein Beispiel für die Notwendigkeit der Unterscheidung zwischen Entwicklungshemmung und Abtötung.

Wärme gehalten werden müssen, und dass die Beobachtung der Aussaaten niemals zu bald abgebrochen werden darf. Deshalb sollen pathogene Bakterien, die einem Desinfektionsmittel ausgesetzt gewesen waren und von ihm wieder befreit sind, bloss in Bouillon, Blutserum oder auf feste brutbeständige Nährboden übertragen und bei Körperwärme gehalten, niemals aber — falls nicht ganz besondre Gründe massgebend sind — auf Gelatine ausgesät werden.

Ausserdem kann man auch den Tierversuch heranziehen. Im allgemeinen wird aber, wenn man es mit leicht züchtbaren Bakterien zu thun hat, die Kultur das sichrere Reagens auf eine vollkommne Vernichtung abgeben, denn nach Behring (Z. 9. 395) können die Bakterien ihre Virulenz eher einbüssen, als ihre Lebensfähigkeit.

Lösliche Mittel

können in Wasser, Bouillon, Blutserum oder daraus bereiteten festen Nährmedien auf ihre entwicklungshemmende oder bakterientötende Kraft gegenüber Bakterien oder deren Sporen geprüft werden, die entweder an Seidenfäden u. dgl. angetrocknet oder in Aufschwemmung gebracht worden sind.

Seidenfäden werden in **wässrige Lösungen** bestimmter Stärke verschieden lange Zeit eingelegt. Herausgenommen, werden sie alsbald gründlich in lauwarmem, keimfreiem Wasser abgespült oder mit einem Mittel behandelt, das mit dem desinfizierenden eine den Bakterien nicht weiter schädliche Verbindung eingeht. Warmes Wasser von 37° eignet sich z. B. für Phenol und ähnliche Stoffe, eine Ausfällung gelingt besonders leicht bei Sublimat mit Schwefelammonium, bei Chlor oder Formalin durch Ammoniak (Geppert, D. 90. 272). Am leichtesten gelingt eine Entfernung des Desinfektionsmittels, wenn Deckglasstückchen (Spirig S. 258) statt Seidenfäden genommen werden. Dann folgt Aussaat oder Verimpfung.

Aufschwemmungen von Bakterien oder Sporen, die Geppert vorzieht, werden nach diesem Forscher, wie folgt, behandelt:

Eine Anzahl ausgekochter sog. Krystallisierschälchen werden mit je 25 ccm siedenden Wassers beschickt und mit ausgekochten Deckeln bedeckt; dann lässt man sie erkalten. In ein andres Schälchen werden 25 ccm vom Desinfektionsmittel gegeben. Hierauf glüht man einen Platinlöffel von etwa ½ ccm Inhalt aus und löscht ihn in siedendem Wasser ab. Das geschieht auch später jedesmal vor seinem Gebrauch. Er wird mit der filtrierten Bakteriensuspension gefüllt und sein Inhalt in der jeweiligen desinfizierenden Lösung durch starkes Umrühren verteilt. Nach Ablauf einer bestimmten Zeit wird dann ein Löffelchen voll herausgenommen und in eins der mit Wasser gefüllten Schälchen übertragen. So ist zu einem bestimmten Zeitpunkt die Aufschwemmung dem Einflusse des Mittels entzogen oder wenigstens einer etwa 50mal schwächern Lösung ausgesetzt. Der grösste Vorteil besteht nun aber darin, dass es bei gewissen Mitteln möglich ist, sie in unlösliche, unwirksame Verbindungen überzuführen.

Zu diesem Ende gibt man z. B. bei Sublimat 1 Tropfen ausgekochter und dann abgekühlter Schwefelammoniumlösung in die 25 ½ ccm

Wasser, wodurch das Sublimat als Schwefelquecksilber unlöslich niedergeschlagen wird. Bei einem derartigen Verfahren darf aber nur ein solches Mittel in Anwendung kommen, das nicht (wenn es im Ueberschuss zugesetzt wird) selbst desinfizierende Kraft hat. Aus dem Wasser oder der dünnen Schwefelammoniumlösung nimmt man einige Tropfen, bringt sie in ein kleines sterilisiertes Krystallisierschälchen, übergiesst sie mit 8 ccm ½%igen verflüssigten Nähragars und bewegt hin und her. Die schwache Agarlösung hat vor der gewöhnlichen stärkern den Vorzug, dass sie, in der Hitze verflüssigt und dann abgekühlt, langsamer erstarrt; daher gestattet sie eine innigere Mischung mit dem Impfmaterial. Das Schälchen wird in den Brutschrank gestellt.

Für den Tierversuch eignet sich ein derartig behandeltes Material weniger, denn die Lösung mit Sublimat und Schwefelammonium ist, für Mäuse wenigstens, sehr giftig. Zur Vermeidung der Giftwirkung setzte ihr Geppert Salzsäure bis zur sauern und dann Soda bis zur alkalischen Reaktion zu (D. 89. 790; 91. 826).

Ist es nicht möglich, das Desinfektionsmittel durch Abwaschung oder Neutralisierung zu entfernen, so hilft man sich durch möglichste Verdünnung. Gruber (Cr. 11. 116) fügte zur Bakterienaufschwemmung zunächst den gleichen Raumteil Desinfektionslösung doppelter Stärke. Nach bestimmten Zeiten wurden Tröpfchen des Gemisches in Bouillon (mit oder ohne Zusatz von Serum, Zucker, Glyzerin) übertragen. Aus dieser ersten Verdünnung wurde eine zweite, allenfalls eine dritte in Bouillon angelegt, um der Gefahr der Entwicklungshemmung zu begegnen, was sich selbst bei 5‰ Sublimat noch erreichen liess. Freilich wird dabei auch das Bakterienmaterial derart verdünnt, dass dadurch Keimmangel entstehen und eine Desinfektion vorgetäuscht werden kann.

Wird statt des Wassers **Bouillon** verwendet, die kürzere oder längere Zeit vorher mit Bakterien geimpft war, und mit dem Desinfektionsmittel versetzt, so ändern sich die Ergebnisse, je nachdem in der Bouillon mehr oder weniger des Mittels durch chemische Verbindungen ausgeschaltet wird, bedingt durch den nicht unbeträchtlichen Salzgehalt einerseits, das Vorhandensein von Pepton andrerseits. Silbernitrat, Quecksilberchlorid z. B. werden infolge dessen hier eine andre Wirkung auf die Kleinwesen ausüben, wie in rein wässrigen Lösungen.

Nach Behring arbeitet man mit Bouillon derart, dass 5 ccm davon mit verschiednen Abstufungen des zu prüfenden löslichen Mittels versetzt werden, worauf in bestimmten Zeitabschnitten Uebertragungen auf frische Bouillon stattfinden.

Eines ganz ähnlichen, von Yersin (P. 2. 60) angegebnen Verfahrens bediente sich de Christmas (P. 6. 374) bei der von ihm geübten Methode zur Gewinnung von brauchbaren Vergleichswerten antiseptischer Stoffe. Als Mass setzte er die Menge des antiseptischen Mittels in tausend Teilen Lösung fest, die hinreichte, um den Staphylococcus aureus als den widerstandsfähigsten Eitererreger, binnen einer Minute zu töten. Dazu waren nötig:

Sublimat . . .	2,5 ‰
Phenosalyl *) . .	7,5 „
Creolin	17,5 „
Solveol	15,0 „
Lysol	15,0 „
Phenol	25,0 „

*) Phenosalyl ist eine Mischung aus:

Acid. carbolic. . . .	9,0
„ salicyl. . . .	1,0
„ lactic. . . .	2,0
Menthol	0,1

Zur Mischung werden die drei Säuren erhitzt. Das Gemisch ist in Glyzerin sehr, in Wasser bis zu 4 % löslich.

Kommen die unter Verwendung von Bouillon erhaltnen Ergebnisse den Verhältnissen, unter denen antiseptische und desinfizierende Mittel im Körper, auf Wunden u. dgl. wirken, schon näher, als die mit einfachen wässrigen Lösungen gewonnenen, so ist doch der Unterschied zwischen dem toten Nährsubstrat und dem lebenden Organismus noch ein viel zu gewaltiger.

„Die Bestimmung des antiseptischen Wertes eines Mittels, das im Innern des menschlichen und tierischen Körpers Allgemeinwirkung ausüben oder in Wunden angewendet werden soll, muss immer an solchen Nährboden vorgenommen werden, die eine der Körperflüssigkeit ähnliche Zusammensetzung besitzen." Dieser Satz hat für das Studium der Desinfektionsfrage eine hervorragende Bedeutung. Alle von diesem Gesichtspunkte aus angestellten Versuche müssen sich der Methode Behrings, der mit **Blutserum** arbeitete, anschliessen. Bei ihrem praktischen Werte besitzt sie obendrein den Vorzug grosser Einfachheit (D. 89. 870).

Man braucht für die Prüfung je eines Mittels nur ein Gläschen mit genau abgemessnen 10 ccm, durch diskontinuierliche Sterilisation keimfrei gemachten (Rinder- oder dgl.) Blutserums. Das Mittel wird, wenn in Lösung, mit geeigneten Pipetten in abgemessner, andernfalls in abgewogner Menge in der Weise zugesetzt, dass zunächst die geringste für den Versuch geplante Konzentration entsteht. Dann wird der Mischung ein Tröpfchen Blutserum mit einer Platinöse entnommen, auf ein zur Sterilisierung durch die Flamme gezognes Deckgläschen gebracht und hier mit einem kleinsten milzbrandsporenhaltigen Seidenfaden*), oder, wenn das Mittel an sporenfreiem Material geprüft werden soll, mit einer Spur Milzbrandblut gemischt. Nun legt man das Deckglas mit dem hängenden Tropfen auf die Höhlung eines Objektträgers, nachdem der Rand des Ausschliffes mit Vaseline bestrichen worden ist. Durch vorsichtige Andrückung des Deckglases wird ein vollkommen luftdichter Abschluss erreicht.

Hierauf wird den 10 ccm Blutserum eine weitere, vorher bestimmte und berechnete Menge des Mittels zugesetzt und nach gründlicher Mischung ein zweiter hängender Tropfen angelegt. Dann wird die Konzentration in demselben Glase abermals gesteigert u. s. w., bis zum höchsten im Plane vorgesehenen Zusatz. Sämtliche Objektträger kommen endlich in einem kleinen Kästchen, auf Fächern übereinander geschichtet, in den Brutschrank und werden täglich der mikroskopischen Prüfung unterzogen. Es wird sich leicht erkennen lassen, ob eine

*) Die dünnen Fädchen werden erhalten, indem man mit einer Schere von einem Seidenfaden 1—2 mm lange Stückchen abschneidet. Dabei zersplittern in der Regel die Fadenstücke in dünne Fasern (D. 87. 806). Man versäume auch nicht, eine gleiche Kontrollprobe mit dem unvermischten Serum zu machen.

Auskeimung aus den Sporen oder Vermehrung vegetativer Zellen stattgefunden hat, oder ob verlangsamtes, verspätetes Wachstum erfolgt, oder ob dauernd eine Entwicklung ausbleibt: in diesem Falle brauchen, das sei nochmals erwähnt, die eingebrachten Keime durchaus noch nicht abgetötet zu sein, sie können auch bloss eine Entwicklungshemmung erfahren haben, was sich durch Uebertragung des Seidenfädchens u. dgl. aus dem hängenden Tropfen auf frische Nährlösung unschwer ermitteln lässt.

Es eignet sich zur Anstellung solcher Versuche nicht jedes Blutserum, am besten das von Pferden, Rindern, Meerschweinchen, Hammeln; dagegen bietet Hunde- und Rattenserum — Milzbrandbakterien wenigstens — nicht gleich gute Verhältnisse zur Auskeimung, auch wenn es sterilisiert ist.

Es hat sich nämlich gezeigt, dass nicht erhitztes Blut oder Blutserum von Menschen und Tieren auf gewisse Bakterien tötend wirkt. Das hat zuerst v. Fodor (D. 87. 745) dann Nutall (Z. 4. 353) ermittelt, ferner Niessen (Z. 6. 487) an dem mit feinstem (sterilisiertem) Kies, Buchner (C. 5. 817) an dem mit Glasperlen defibrinierten Blute, sowie an Blutserum festgestellt. Man braucht nur das Blut oder sein Serum in sterilen Reagensgläschen zu verteilen, mit den zu prüfenden Bakterien zu impfen und von Zeit zu Zeit 1 Platinöse zur Plattenaussaat zu entnehmen, um durch spätere Zählung der aufgegangnen Ansiedlungen zu erkennen, dass wenigstens eine Zeitlang das Blut ausserhalb des Körpers bakterienfeindliche Eigenschaften besitzt. Durch Erwärmung auf 54—58° büsst es diese dauernd ein und wird zu einem guten Nährboden. Verdünnung mit Wasser beraubt nach Buchners (B. 92. 449) Forschungen das Serum ebenfalls dieser seiner Wirkung, macht es inaktiv, nachträglicher Zusatz von Kochsalz in seinem physiologischen Verhältnis (0,7 %) stellt sie jedoch wieder her.

Auf die oben besprochne Art und Weise erhalten wir Aufschluss über den entwicklungshemmenden, den antiseptischen Wert irgend eines Mittels in eiweisshaltiger Flüssigkeit.

Wollen wir aber über den bakterientötenden, den desinfektorischen Wert eines Mittels in solchen Medien und über die Höhe der dazu nötigen Konzentration etwas erfahren, um für die Durchführung der Desinfektion in der Praxis Anhaltepunkte zu gewinnen, so nimmt man Blut, Gewebesaft, Oedemflüssigkeit von Tieren, die der Krankheit erlagen, gegen deren Erreger man vorgehen will. Hat man die Anwesenheit lebender Keime — sagen wir der Milzbrandbazillen — darin festgestellt, so versetzt man sie mit genau dosierten Mengen des betreffenden Mittels — z. B. von Sublimat*) — und bringt nach gewissen Zeitabschnitten eine Probe des sublimathaltigen Bluts oder Oedemwassers, etwa einige Platinösen voll, in Bouillon, die im Brutschrank bei der geeignetsten Wärme gehalten wird. Auch der Tierversuch lässt sich verwenden, da durchs kreisende Blut das miteingeführte Sublimat von der Impfstelle bald weggeschafft wird, während die Bakterien

---

*) Den störenden Einfluss der Eiweissfällung durch Sublimat kann man durch Zusatz von Kochsalz, Ammoniumchlorid u. a. Salzen begegnen. Quecksilberchloridlösungen mit Chloriden haben überhaupt den Vorzug grösserer Haltbarkeit.

gegebnen Falls sich vermehren und das Tier töten. Ein feineres Reagens bleibt aber immer der Kulturversuch (Behring Z. 9. 397).

In Wasser unlösliche, sowie dampf- und gasförmige Mittel.

Metalle oder deren unlösliche Verbindungen werden, wie andre unlösliche Stoffe mit der bakterienhaltigen Nährgelatine oder Nähragar auf Platten oder in Schalen ausgegossen oder in die ausgebreitete, noch nicht völlig erstarrte Gallerte eingelegt oder auf sie gestreut. Man wird dann erfahren, ob in näherer oder weiterer Entfernung von den eingebrachten Teilchen Behindrung oder Ausbleib des Wachstums die Folge ist. Miller, sowie Behring machten die Beobachtung, dass einige Metalle, wie Gold, Silber, Quecksilber u. a. in einem Umkreise von 0,4—3 cm keine Entwicklung von Choleravibrionen, Milzbrand-, Diphtherie- und Pyocyaneusbazillen aufkommen liessen, wahrscheinlich infolge von Auflösung geringer Spuren der Metalle in der Gelatine.

Fig. 118.



Eine hemmende Wirkung von Jodoform, sowie von Formaldehyd, Kreolin und Chloroform und ihrer Dämpfe auf in Entwicklung begriffne Kulturen des Cholera-vibrio machte Buchner (C. 2. 361) in ebenso einfacher, wie anschaulicher Weise durch Einhängung eines kleinen, mit dem Mittel gefüllten Röhrchens in das grössere sichtbar, das in seinem untern Teil die bakterienhaltige Gelatine enthielt (Fig. 118).

Bei der Prüfung von ätherischen Oelen wandte Riedlin (A. 7. 309) teils diese Methode seines Lehrers an, teils folgende:

Aufrecht erstarrte, geimpfte Gelatine wurde mit 1 cm hoher Schichte des ätherischen Oels übergossen (Röhrchenmethode);

die auf Platten ausgebreitete infizierte Gelatineschichte wurde in fensterkreuzartigen Strichen mit dem Oele behandelt (Plattenmethode);

die ätherischen Oele wurden mit Seifenspiritus emulgiert in verschiednen Mengenverhältnissen mit verflüssigter Gelatine vermischt und schräg oder aufrecht erstarren lassen; darauf wurden die Bakterien strich- oder stichförmig geimpft (Emulsionsmethode).

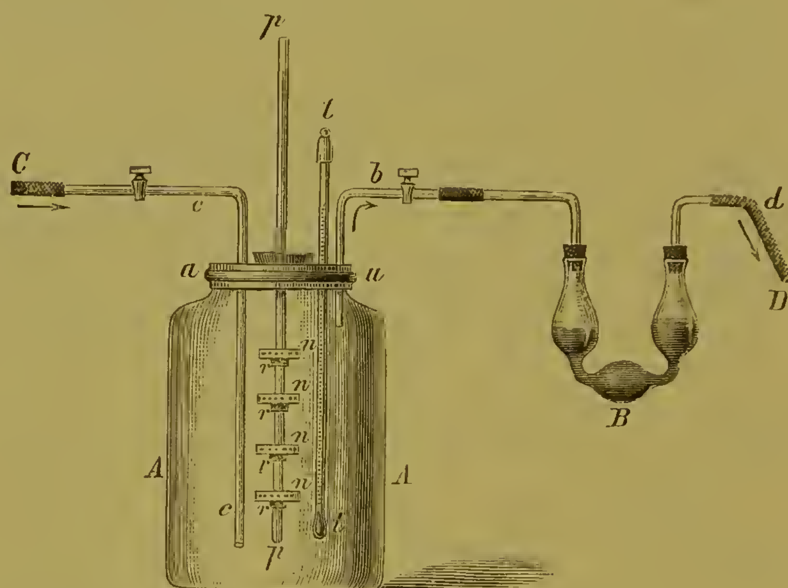
Cadéac und Meunier (P. 89. 317) tauchten lediglich einen mit dem Kulturmateriale beladnen Platindraht für kürzere oder längere Zeit in ätherische Oele und stachen dann in Nähragar ein, wobei sie den nicht ausser acht zu lassenden Fehler begingen, gewisse Oelmengen in den Nährboden mit zu übertragen.

Löffler (D. 91. 353) untersuchte den entwicklungshemmenden Einfluss einer grossen Anzahl ätherischer Oele auf Diphtheriebazillen derart, dass er von frisch geimpften Röhrchen mit schräg erstarrtem Bouillonserum die Wattepfropfen abnahm, mit dem betreffenden Oele benetzte, wieder aufsetzte und mit einer Gummikappe überzog; bei der Prüfung festen Thymols kam ein Stückchen davon zwischen Stopfen und Gummimembran.

In ebenfalls einfacher Weise lassen sich die Versuche machen, wenn man Kulturen auf Platten, in Schalen oder Kölbchen zugleich mit einem Schälchen, das die fragliche Substanz enthält, unter eine Glasglocke bringt (Forné P. 7. 529 u. a.).

Omeltschenko leitete mit Hilfe einer Wasserstrahlluftpumpe die Dämpfe ätherischer Oele über Kulturen auf schräg erstarrtem Agar. Das Oel in der Vorlage musste, da es mit der Zeit an Verdampfungsfähigkeit einbüsste, alle 10—12 Stunden erneuert werden. Eine Wägung des Oelbehälters im leeren, sowie im gefüllten Zustande vor und nach der Durchleitung der mit Chlorcalcium entwässerten Luft zeigte die Menge des verdampften Oels, eine Gasuhr die Menge der durchgesaugten Luft an. Hinsichtlich der nähern Beschreibung der Anordnung des ganzen Apparats muss auf das Original (C. 9. 813) verwiesen werden.

Fig. 119.



Rein gasförmige Körper, Rauch u. dgl. werden über oder durch geimpfte Nährboden oder über bakterientragende Seidenfäden u. dgl. geleitet.

Fischer und Proskauer legten bei ihren Untersuchungen über die Desinfektion mit Chlor und Brom (K. M. 2. 228) mit Keimen getränkte Seidenfäden in siebförmig durchlöcherte Näpfchen von Paraffin (n der Fig. 119), die auf Gummiringen (r) ruhend, an einem Glasstabe (p) übereinander gereiht waren. Durch eine zentrale Oeffnung in der festsitzenden Kautschukkappe a wurden sie in die Glasflasche A eingebracht; weitere Oeffnungen, sämtlich dicht verschliessbar, dienten zur Einführung des Thermometers t, sowie des Gaszuleitungsrohres C und des Ableitungsrohres D, das mit einer Saugvorrichtung in Verbindung stand. Das Gas wurde vor seinem Austritt durch eine Absorptionsflüssigkeit B geleitet, in der später der Gehalt der abgesaugten Luftmenge an Gas massanalytisch bestimmt ward.

Den Verhältnissen in der Wirklichkeit noch mehr entsprechend, hat man bakterienhaltige Seidenfäden an verschiednen, mehr oder weniger zu Tage liegenden Stellen in einem Zimmer ausgelegt, worin

die betreffenden Dämpfe (Chlor, schweflige Säure u. s. w.) entwickelt wurden.

Die Untersuchungen im Kaiserlichen Gesundheitsamte ergaben, dass die schweflige Säure von Chlor- und Bromdämpfen an Wirksamkeit auf Kleinwesen übertroffen wird. Sämtlichen dieser Mittel aber haftet der Nachteil an, dass sie den zu desinfizierenden Objekten schaden, vornehmlich aber, dass sie nur bei Vorhandensein von Feuchtigkeit wirkend, an trocknen Gegenständen die Keime unversehrt lassen; in Ritzen, Fugen und Spalten ferner dringen diese Gase nicht ein, lassen also gerade dort im Stich, wo wir sie hauptsächlich brauchen. Infolgedessen sind die früher so häufig in Anwendung gezognen, sich eines grossen Ansehens erfreuenden Räucherungen mit schwefliger Säure als unzweckmässig verlassen worden. Aus dem gleichen Grunde leisten auch Sublimatdämpfe ungenügendes (Lübbert, Heraeus, Kreibohm).

Frankland beobachtete den Einfluss der verschiedensten Gase gegenüber dem Wachstum von Bakterien auf Gelatineplatten mit einer dem Botkinschen Apparate (S. 144) ähnlichen Vorrichtung (Z. 6. 13). Eingehende Versuche über das Verhalten der Bakterien unter Kohlensäure hat C. Fränkel (Z. 5. 332) durchgeführt. Das Gas wurde in einem Kippschen Apparate (S. 133) aus geschlagnem Marmor und verdünnter roher Salzsäure (1 + 4 Wasser) entwickelt und in destilliertem Wasser sowie in einer kleinen Marmorvorlage von Salzsäureteilchen befreit. (Man bekommt manchmal unbrauchbaren Marmor, aus dem sich namhafte Mengen von Schwefelwasserstoff entwickeln.) Die Bakterienarten, die der Einwirkung ausgesetzt werden sollten, waren entweder in vorher bereits fertig gestellten Rollröhrchen verteilt, um eine möglichst dünne Schicht zu haben, oder in Bouillon, um Brutschrankwärme anwenden zu können. Mehrere nach Fränkels Methode (S. 139) hergerichtete Röhrchen, deren Ab- und Zuleitungsrohre durch kurze Gummischläuche gasdicht verbunden waren, wurden hintereinander geschaltet und entweder 1—2 Wochen lang dem stetigen Gasstrome ausgesetzt oder früher schon abgeschmolzen und dann in den Brutschrank gestellt. Nach dieser Methode prüfte auch Kladakis (Cr. 8. 23) den Einfluss des Leuchtgases auf Bakterien.

Die Wirkung des Tabakrauchs ist mehrfach Gegenstand der Untersuchungen gewesen. Entweder wurden bakterienhaltige Fäden in einen Raum gehängt, durch den Zigarrenrauch gesaugt wurde (Tassinari C. 4. 449), oder Kulturen auf schräg erstarrten oder flüssigen Medien der Ueber- oder Durchleitung ausgesetzt (Miller, Wernicke, Falkenberg Z. 2. 922 und 648).

Anhang.

Untersuchung niederer Pilze.

Schimmelpilze,

unter denen es auch krankheitserregende gibt, werden nach denselben Grundsätzen, wie die Bakterien isoliert und reingezüchtet.

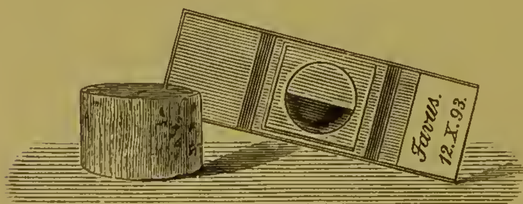
Als Nährboden eignen sich unter den gewöhnlichen Nährgelatine, -Agar, besonders Kartoffel, Brotbrei, wie überhaupt die Schimmelpilze saure Nährboden bevorzugen.

Die Beobachtung der Auskeimung lässt sich mit jeder Plattenkultur anstellen. Zu genaueren Untersuchungen mit stärkern Vergrösserungen, wozu in der Regel ein starkes Trockensystem (etwa 250fache Vergrösserung) ausreicht, kann man ein Deckglas auf die Kultur legen, noch besser sticht man ab und überträgt die ganze oder einen Teil der Ansiedlung in 50 %igen Alkohol, dem einige Tropfen Ammoniak zugesetzt sind, zerzupft vorsichtig und legt ein Fäserchen in gerade soviel Glyzerin unter das Deckglas, dass nichts davon unter dem Rand hervorquillt. Dann tropft man mit einem brennenden Wachskerzchen an jede Ecke flüssiges Wachs und verteilt es mit einer warmen Sonde so, dass ein schmaler Wachsrahmen entsteht, der das Deckglas am Objektträger festhält; dieser Rahmen kann dann noch mit Asphaltlack überzogen werden.

Zur unmittelbaren Beobachtung der Sporenbildung an den senkrecht aufsteigenden Lufthyphen eignen sich zwei von Unna angegebne Methoden, deren eine die

Kultur im durchbohrten Objektträger*) ist. Die Gläser sind in der Mitte mit einem kreisförmigen Ausschnitt, einem Loch von ca. 16 mm Durchmesser versehen. Nach Sterilisierung wird das Loch auf der einen Seite mit einem sterilisierten, mit Vaselin eingefetteten Deckgläschen verschlossen, die entstandne Vertiefung mit einer Mischung von Nährgelatine und -Agar oder Nähragar allein ausgefüllt und nach Erstarrung das Deckglas wieder entfernt. Mit geglühtem Platindraht sticht man nun etwa die Hälfte der Nährbodenscheibe aus und impft auf die freie Kante des stehen gebliebnen Halbmonds. Der Objektträger wird auf einer Seite in den Ausschnitt eines Korkens aufrecht gestellt und in einer feuchten Kammer bei

Fig. 120.



*) Monatshefte für praktische Dermatologie 1888. 10. 465.

geeigneter Wärme aufbewahrt. Bei der spätern mikroskopischen Untersuchung wird auf der einen Seite wieder ein sterilisiertes Deckgläschen aufgelegt; auf den Objekttisch des Mikroskops oder an den Objektträger selbst (Fig. 120) aber werden zwei Leisten von Glas oder Pappe als Unterlage geklebt, um den Tisch nicht zu verunreinigen. Diese Lochkulturen eignen sich besonders für hochwachsende Formen, wie Mukorineen.

Noch einfacher ist die Beobachtung im Reagensglase mit Hilfe der „Minimalkulturen" d. h. Kulturen mit minimalem Nährboden, einer andern Methode Unnas (C. 11. 6). Man nimmt schräg erstarrte Agarproben und impft stichförmig zwischen Nährboden und Glaswand. Hat die Kultur mit gutem Wachstum eingesetzt, so wird die Glaswand unterhalb des Agars flüchtig erhitzt bis die gelockerte Nährmasse herausgleiten kann. Die zurückbleibenden Teilchen des Pilzes wachsen dann auf der noch mit äusserst dünner Schichte bedeckten Glaswand weiter und sind der mikroskopischen Untersuchung (mit Hilfe des v. Sehlenschen Reagensglashalters) auch bei starker Vergrösserung zugänglich. Bei starker Lichtbrechung und Ansatz von Tautröpfchen wird das Reagensglas mit folgender lichtbrechender Lösung:

Gelatine 1,0, Spiritus 25,0, Salmiakgeist 25,0, Glyzerin 15,0, destilliertes Wasser 35,0 ausgefüllt.

Eine Färbung der Pilze ist nur für besondre, eingehende Untersuchungen nötig und verweise ich auf die diesbezüglichen Angaben Unnas über die Hyphomyceten (C. 9. 8 und 40). Für gewöhnlich reicht man ohne sie aus.

Zur Unterscheidung der vier Hauptarten von Schimmelpilzen, wie sie uns als Schmarotzer auf den Kulturen oder gegebnen Falls als Krankheitserreger begegnen, genügt folgende Uebersicht*):

Die **Mucor**-Arten sind leicht an Köpfchen zu erkennen, die am Ende der vom Mycel aufsteigenden Hyphen sitzen, und zwar oft schon mit blossem Auge. Mikroskopisch sieht man auf einer Anschwellung der Hyphe, auf der sog. Columella, eine grössere Kappe blasenartig übergestülpt; zwischen der Columella und der Kappe befinden sich die Sporen, Conidien, die nach Einreissung des Hütchens in Schwärmen austreten; dieses Gebilde heisst Sporangium (Phot. Taf. VIII Nr. 50).

Von nicht pathogenen Mukorineen seien erwähnt:

Mucor mucedo mit grossem Sporangium und langen Hyphen.

Mucor racemosus mit kleinem Sporangium und kürzern, verzweigten Hyphen.

Mucor stolonifer mit schwarzen, warzigen Sporangien, bräunlichen, fast kugligen Sporen und zunächst aufsteigenden, dann sich aber bogenförmig nach dem Boden zu wendenden Hyphen, die an der Stelle, wo sie den Boden berühren, einige Wurzelfäserchen aussenden.

Krankheitserreger sind:

Mucor corymbifer Sporangienträger lang hingestreckt, doldenförmig verzweigt; Mycel weissgrau; ähnlich dem M. racemosus.

Mucor rhizopodiformis, ähnlich dem stolonifer, aber kleiner; Mycel schneeweiss, dann mausgrau.

*) Näheres s. bei Flügge, Die Mikroorganismen; Leipzig, F. C. W. Vogel 1886.

Die pathogenen Arten aller Schimmelpilze wachsen bei Körperwärme, die nicht krankheitserregenden gedeihen bei Zimmerwärme gut; einige Ausnahmen abgerechnet, thut man bei allen Schimmelpilzen gut, die angesetzten Kulturen erst 2—3 Tage in den Brutschrank zu setzen; nachher kann man die weitere Entwicklung bei Zimmertemperatur vor sich gehen lassen.

Die **Aspergillus**-Arten zeichnen sich durch eigentümliche flaschenförmige Aufsätze auf dem kolbig angeschwollnen Ende der aus dem Mycel aufsteigenden Hyphe aus. Diese, auch Kegelkeilen ähnlichen Aufsätze heissen Sterigmen; an ihrem äussersten Ende schnüren sich die Sporen (Conidien) ab, die gewöhnlich noch einzeln oder zu mehreren aufsitzend im mikroskopischen Präparate angetroffen werden. Der ganze, keulenförmige Fruchtträger hat die Gestalt eines sog. Morgensterns (Phot. Taf. VIII Nr. 48).

Im Mycel dieser Pilze bildet sich eine Dauerform von noch stärkerer Widerstandsfähigkeit, wie die der Conidien ist, in Gestalt dunkler Gebilde, Perithecien genannt, gehäuseartiger Fruchtkörper, die Sporenschläuche in sich schliessen.

Von nicht krankheitserregenden kommen häufig, besonders auf Brot, vor:

Aspergillus glaucus mit runden Köpfchen, blaugrüne oder gelbgrüne Rasen bildend.

Aspergillus niger mit kugligen Fruchtträgern und schwarzbraunen Sporen. Bildet dunkelschwarzbraune Rasen.

Krankheitserreger sind:

Aspergillus flavescens mit gelben bis braunen Conidien, gelben bis grünlichbraunen Pilzrasen.

Aspergillus fumigatus: halbkuglige Anschwellung der Hyphe, kurze Sterigmen, Pilzrasen anfänglich blaugrün, ähnlich dem Asp. glaucus, unter Umständen ähnlich dem Asp. flavescens; später braungrau.

Die **Penicillium**-Arten (Pinselschimmel) zeichnen sich durch Gliederung (Septierung) ihres Mycels aus, so dass sie auch ohne erfolgte Fruchtbildung allein daran schon erkannt werden können. Wie bei den Aspergillaceen schnüren sich die Sporen am Ende von Sterigmen ab; die Sterigmen sitzen auf stielartigen Auszweigungen, den Basidien auf, zu denen die Hyphen bei diesen Schimmelpilzen auseinander gehen.

Allgemein bekannt und wegen der häufigen Störungen, die es als Verunreiniger unsrer, der Luft ausgesetzt gewesenen Kulturplatten bedingt, nicht gerade gern gesehen ist das

Penicillium glaucum, mit seinen erst weissen, später blaugrünen, eigentümlich dumpfig riechenden Ansiedlungen (Phot. Taf. VIII Nr. 47).

Kulturplatten mit so sporenreichen Schimmelpilzen müssen äusserst behutsam behandelt werden; denn jeder Luftzug führt eine Menge Conidien mit sich fort und verunreinigt nicht bloss die nächste Umgebung auf der Platte, sondern auch die Luft des Zimmers. Sie finden in Laboratorien um so reichlichere Bedingungen des Gedeihens, als infolge der Wasserverdampfung beim Kochen, Sterilisieren u. s. w. allerorts Feuchtigkeit genug vorhanden ist. Hinter Tischen, Schränken, an der Wand kann man dann mitunter die Rasen vorfinden und darf sich nicht

wundern, wenn einmal eine reine Pilzepidemie unter den Kulturplatten ausbricht. Gründliche, feuchte Abscheuerung mit Karbollösung, Lüftung, Sorge für Trockenheit schaffen Abhilfe. Sublimat hindert die Entwicklung der Schimmel viel weniger, wie Phenol und seine Abkömmlinge. Kleister, Leim, Gummilösung z. B. verschimmeln trotz Sublimatzusatz, nie aber bei Einmischung von auch nur wenig Karbolsäure.

Die **Oidium**-Arten bilden keine Hyphen und keine so bezeichnenden Fruchtträger wie die drei andern. Im Mycel selbst schnüren sich, was schon bei schwacher Vergrösserung zu sehen, walzenförmige Körper mit einem oder mehreren runden Gebilden im Innern ab, deren Reihen nicht gradeaus, auch nicht stärker gebogen und gekrümmt verlaufen, sondern winklige Abbiegungen und Abknickungen erkennen lassen.

Am bekanntesten und verbreitetsten ist das Oidium lactis, das sich aus jeder ungekochten, besonders säuernden Milch leicht reinzüchten lässt (Phot. Taf. VIII Nr. 49). Laser, der es immer in der Butter fand, schlägt vor, es zum Nachweis der Anwesenheit von Butter, selbst in geringen Mengen, gewissermassen als differential-diagnostisches Hilfsmittel zur Unterscheidung von Kunstbutter zu verwerten (Z. 10. 519).

Nahe verwandt mit Oidium scheint der Soorpilz zu sein. Jedoch bereitet seine Einreihung ins System immer noch Schwierigkeiten. Er bildet teils der Hefe ähnliche Gebilde, teils gegliederte Fäden, über deren Beziehungen zu einander manche Meinungsverschiedenheiten bestanden. Linossier und Roux (Cr. 11. 733 und 12. 162), die mit die eingehendsten neuern Studien über den Pilz machten, konnten unter andern Aubrys Behauptung, dass er nur in flüssigen Substraten die Fäden, auf festen die hefeähnlichen Gebilde zeitige, nicht bestätigen; Laurent (Cr. 8. 407) kam zu dem Schlusse, dass die hefeartigen Zellen wieder solche erzeugten; aus den Pilzfäden aber neue Hyphen aussprossten, die an ihrer Oberfläche Kolonien der Hefeform trügen. Teils um ein Bild von den Vorteilen der Neisserschen Zerlegung gehärteter Gelatinestichkulturen in Schnitte zu geben, teils um die Art des Wachstums des Soorpilzes zu illustrieren, habe ich zwei Photogramme (Taf. IV Nr. 20 und 21) beigegeben; die 250fache Vergrösserung ist leicht als ein Abschnitt aus dem obern Ende der 40mal vergrösserten Pilzfigur zu erkennen; sehr schön sieht man die hefeähnlichen Gebilde und die Fadenformen, an deren Aesten mehrere Knospen aus den kleinen ovalen Gebilden in Blumenkelchform herausgekeimt sind.

Dem Oidium nahe stehen ferner die Fadenpilze (Hyphomyceten), die bei gewissen Hautkrankheiten gefunden werden. Auf die verschiednen Favuspilzarten und ihre Züchtung werde ich später zurückkommen.

Sprosspilze (Hefen)

haben ihren Namen von der Art ihrer Fortpflanzung, die derart vor sich geht, dass an irgend einer oder mehreren Stellen der rundlichen oder ovalen Zelle eine neue hervorsprosst, die, erst wie eine kleine, blasenartige Vortreibung aussehend, bald grösser wird, Aussehen und Gestalt der Mutterzelle behält und nun entweder sich von ihr trennt oder mit ihr verbunden bleibt; mehrere derart hervorgegangene, unter sich in Zusammenhang gebliebne Zellen heissen Sprossverbände. Im Innern der von einer Membran umgebnen Hefezelle befinden sich eine Anzahl, 4—6—8 unregelmässig rundliche Gebilde, die jedoch im

Gegensatz zu frühern Ansichten nicht als Sporen anzusprechen sind (Möller, C. 12. 549); ausserdem macht sich in jeder Zelle bald wandständig, bald in der Mitte ein Kern bemerklich. Krankheitserreger gibt es unter ihnen nicht. Wichtig sind sie als Erreger der alkoholischen Gärung. Die auf der Oberfläche von gärenden Flüssigkeiten oft sichtbare Decke, sog. Kahmhaut, rührt zumeist von Hefe (Saccharomyces mycoderma) her, man sah sie früher als die Ursache der Essigsäuregärung an, die sie nach Nägeli nur vorbereitet.

Saccharomyces ellipsoideus ist eins der hauptsächlichsten, bei der Gärung des Mosts in Betracht kommenden Kleinwesen;

Saccharomyces cerevisiae ist bei der Biergärung thätig und wird auch bei der Bäckerei benützt. Man unterscheidet eine Oberhefe und eine Unterhefe. Die Oberhefe wächst bei 14—18° und entwickelt rasch Alkohol und Kohlensäure, deren Bläschen die Sprossverbände an die Oberfläche der Flüssigkeit (Weissbier) führen. Die Unterhefe tritt nicht so stürmisch in Wirkung, wächst bei niederer Temperatur (4 bis 10°) und setzt sich auf dem Boden ab (Braunbier).

Eine Milchzucker vergärende Hefeart ist neben einer oder einigen Bakterienarten im Kefir enthalten.

Farbstoffbildenden Hefearten begegnen wir öfters als zufälligen Ansiedlungen aus der Luft auf unsern Kulturplatten, namentlich der Rosahefe. Manchmal auch der schwarzen Hefe, deren Hefennatur jedoch noch nicht sicher steht. In Sammlungen weitergezüchtet, versagt ihre Entwicklung nach mehreren Generationen leicht.

Algen

stehen den Bakterien näher, als den Schimmel- und Sprosspilzen. Sie kommen nur untergetaucht in Wasser vor und begegnen uns häufig bei der mikroskopischen Wasseruntersuchung, selten bei der kulturellen, da sie auf unsern gebräuchlichen Nährboden nicht oder nur schwer züchtbar sind. Meist sind es chlorophyllhaltige Kryptogamen, doch kommen auch chlorophylllose vor. Ihr Hauptmerkmal zum Unterschied von den Bakterien ist ein Spitzenwachstum nach der einen Seite hin und ein Festsitzen an irgend welchen körperlichen Bestandteilen, Pflanzenresten u. dgl., mit einer schmalen Basis auf der andern Seite. Die drei bei Wasseruntersuchungen oft aufstossenden Arten sind:

Beggiatoa mit ihren im Innern eingelagerten, aus regulinischem Schwefel bestehenden, hellglänzenden Körperchen; häufig, wo Schwefelwasserstoff vorhanden ist. Bewegen sich langsam kriechend.

Crenothrix, namentlich in eisenhaltigem Wasser zu finden, wo sie nicht selten zur Entstehung grosser, durch Einlagerung von Eisenmassen rot oder braunschwarz gefärbter Massen Veranlassung geben, die imstande sind, Störungen in Röhrenleitungen hervorzurufen. Sie zeigen deutliche Scheidenbildung, innerhalb deren kleine oder grössere rundliche Gebilde, Sporen, entstehen, die am Ende des Fadens oft frei austreten.

Cladothrix, ähnlich der Crenothrix, besitzt als Merkmal die sog. falsche Astbildung; die scheinbaren Verästlungen stellen sich bei genauerm Zusehen als aneinander gelagerte Fäden heraus.

III.

Bakteriologische Diagnostik.

Vorkommen und Nachweis von Kleinwesen im menschlichen Körper und in der Umgebung des Menschen.

Wer mit Hilfe der bakteriologischen Untersuchungsmethoden klinische Diagnosen stellen will, muss mit den Grundsätzen der Sterilisation, der keimfreien Entnahme von Aussaat- und Impfmaterial und der Uebertragung auf künstliche Nährboden und auf Tiere bereits vertraut sein, er muss auch allgemeine Kenntnisse über die Lebenseigenschaften der Bakterien besitzen, um im gegebnen Falle jeweils die entsprechenden Färbeverfahren, die passenden Nährboden und die geeigneten Versuchstiere wählen zu können.

Dazu gehört ausser einer gewissen praktischen Erfahrung eine theoretische Vorbildung, wie sie nur durch das Studium der einschlägigen, laufenden Literatur und guter, fachwissenschaftlicher Bücher gewonnen werden kann. Wer sich für bakteriologische Untersuchungen interessiert, soll nicht versäumen, die grundlegenden Arbeiten Kochs, namentlich die Abhandlung über die Aetiologie der Tuberkulose (K. M. 2. 1) zu lesen, die das beste Vorbild gibt. Ausserdem verweise ich auf das Studium des vortrefflichen Buches: Grundriss der Bakterienkunde von C. Fraenkel (Berlin bei Hirschwald), das schon durch seine Sprache äusserst anregend wirkt, sowie auf Günthers Einführung in das Studium der Bakteriologie (Leipzig bei Thieme). Die reichhaltigste und beste Sammlung von Abbildungen besitzen wir in dem Mikrophotographischen Atlas der Bakterienkunde von C. Fraenkel und R. Pfeiffer (Berlin bei Hirschwald) mit erläuterndem Texte.

Ein notwendiges Hilfsmittel ist das Vorhandensein einer Sammlung der wichtigsten Bakterienarten in Reinkulturen, die durch allmonatliche oder öftere Umzüchtungen instandgehalten werden muss, um jederzeit Material für vergleichende Untersuchungen zur Hand zu haben, wie sie für manche Zwecke, z. B. für die Typhusdiagnose, unentbehrlich sind (s. a. S. 121).

Die allgemeinen Grundsätze der bakteriologischen Untersuchungen zur Erkennung von ansteckenden Krankheiten fasse ich zusammen in dem folgenden Abschnitte über den

Nachweis von Krankheitserregern in der Leiche.

Bei der **Eröffnung menschlicher Leichen** haben dieselben Regeln Geltung, wie sie früher in dem Kapitel über die Leicheneröffnung von Versuchstieren besprochen wurden (S. 164). Entsprechend den doch

anders gelagerten Verhältnissen aber kommen noch andre Gesichtspunkte in Betracht, und ich gebe deshalb zunächst die von V. Babes*) aufgestellten Vorschriften wieder, die sich allerdings von Geübtern nach der einen oder andern Richtung hin werden abändern lassen, ohne der Sicherheit des Ergebnisses dadurch Eintrag zu thun:

Der Operateur muss peinlichst sauber arbeiten, seine Hände oder die Kautschukhandschuhe, deren er sich bedient, müssen in Sublimatlösung gewaschen und während der Leichenöffnung oft in sie getaucht werden, um möglichst alle Verunreinigungen zu vermeiden.

Der Leichnam war bis zur Oeffnung passend aufbewahrt, im Sommer im Eiskeller von 5—6°, im Winter bei einer ähnlichen Temperatur; je eher nach dem Tode die Sektion vorgenommen werden kann, desto besser.

Die Hautoberfläche des Leichnams wird mit einer 1‰igen Sublimatlösung abgewaschen. Während der ganzen Dauer der Oeffnung bedient man sich der gleichen Lösung.

Die nötigen Instrumente müssen vorher im Trockenschrank sterilisiert worden sein.

Die Leichenöffnung wird am besten in der Nähe einer pathologisch-anatomischen Arbeitstätte vorgenommen.

Der erste Hautschnitt vom Kinn bis zur Schamgegend durchdringt das Unterhautzellgewebe und die Muskulatur; er wird mit einem sterilisierten Messer gemacht.

Dann wird das Messer gewechselt; man nimmt ein zweites sterilisiertes Skalpell zur Eröffnung der Bauchhöhle, ein drittes zur Eröffnung der Brusthöhle.

Die im Bauchraum, in der Brusthöhle und im Herzbeutel enthaltnen Flüssigkeiten werden entnommen, indem man etwas entfernt vom ersten Einschnitt einen geglühten Platindraht oder eine Platinöse eintaucht und davon in Kulturröhrchen oder auf vorher vorbereitete Platten ausstreicht. Gleichzeitig wird mit einer sterilisierten Pravazschen (Stroscheinschen) Spritze eine Probe entnommen und einem Versuchstiere (Meerschweinchen, Kaninchen, Maus) einverleibt.

Zur bakteriologischen Untersuchung der Organe wird eine Stelle an der Oberfläche mit heissem Messer oder glühendem Glasstab in der Ausdehnung von etwa 2 cm angesengt. Mit heissen Instrumenten reisst man das darunter liegende Gewebe ein. Dann wird aus der Tiefe mit geglühten Scheren oder Pinzetten ein Stück herausgeschnitten oder -gerissen, oder Gewebssaft mit dem Platindraht entnommen und weiter auf künstliche Nährboden (Platten) und aufs Tier verimpft.

Nutall (C. 11. 539) benützt zur keimfreien Entnahme von Material aus der Tiefe des oberflächlich angesengten Organs einen 1 mm dicken Platindraht, dessen Ende zu einer speerförmigen Spitze zugehämmert und zugeschnitten ist; seitlich ist sie etwas geschliffen und in der Mitte durchlocht. Der Draht steckt in einem Messingröhrchen (Fig. 121).

Der Inhalt der Eingeweide, Bronchien, Nase, Uretheren u. s. w. wird auf Gelatine oder Agarplatten ausgesät.

---

*) Annales de l'Institut de Pathologie et de Bactériologie de Bucarest 1889. p. 313.

Gleichzeitig bereitet man Deckglas- oder Objektträgerpräparate für die mikroskopische Untersuchung vor, indem man von den zu untersuchenden Flüssigkeiten oder Gewebssäften Ausstriche — am besten in der Form der Anfangsbuchstaben der Namen des Organs (Heim) — macht und lufttrocken werden lässt.

Mit einem scharfen Skalpell werden dann noch Stückchen der Organe herausgenommen und in Alkohol zur Härtung und spätern Zerlegung in Schnitte übertragen (S. 168).

Fig. 121.



Bei jeder Leichenöffnung werden etwa 20 Proben von Flüssigkeiten oder Organteilchen entnommen, um hinreichendes Material für Kulturen zu haben.

Leider gestatten es die Verhältnisse in der Praxis nicht immer, alle aseptischen Vorsichtsmassregeln bei Leichenöffnungen in der von Babes auseinandergesetzten, wünschenswerten Weise durchzuführen. Ein denkender Untersucher wird aber sich auch in der Not so behelfen können, dass die von ihm gemachten Entnahmen eindeutige Ergebnisse liefern, soweit es der ihm vorliegende Fall überhaupt gestattet. Abgesehen von mancherlei störenden Dingen, die dabei zu überwinden oder zu umgehen sind, ist es auch nicht immer möglich, mit wohl vorbereiteter bakteriologischer Ausrüstung anzurücken, oder gar eine Anzahl Versuchstiere in die Leichenhalle mitzubringen. Tiere brauchen ja nicht sofort zur Hand zu sein, wenn nur die pathologischen Flüssigkeiten oder Organteilchen in einigen, womöglich sterilisierten Gefässen gesammelt, ins Laboratorium geschafft werden können, so genügt es. Haben sich in dieser Zwischenzeit, die selbstverständlich so kurz als thunlich bemessen sein muss, einige Fäulniserreger eingeschlichen oder vermehrt, so schadet das nicht, denn solche Bakterien sind für den tierischen Körper nicht schädlich; dieser wird nur von Krankheitserregern befallen, oder von Giften geschädigt, die von Bakterienmassen herrühren. Ist freilich schon vorgeschrittne Fäulnis vorhanden, dann hört das einwandfreie Arbeiten auf, wenn nicht auf gewisse, ganz bestimmte pathogene Bakterien gefahndet wird, die bei der Fäulnis erfahrungsgemäss sonst nie vorkommen, z. B. Milzbrand-, Tuberkel-, Rotzbazillen.

Bei der Anlegung von Kulturen aber muss das Aussaatmaterial so frisch als möglich sein. Deshalb legt man Platten am besten sogleich an Ort und Stelle*) an und nimmt dazu eine Anzahl

*) Die sofortige Verarbeitung der geimpften Nährboden zu Platten- oder Schalenkulturen ist eine unerlässliche Bedingung. Sonst ist man Zufälligkeiten preisgegeben, die einen zu den grössten Irrtümern führen können. Denn in dem günstigen Nährmittel vermehren sich Fäulniskeime sehr rasch und können die Krankheitserreger überwuchern. Darum kann ich dem Vorschlage Plauts (C. 12. 203 und 13. 433), Gelatineröhrchen mit je einem eingestochnen Platindraht zusammen im Dampf sterilisiert auf die Praxis mitzunehmen, nur unter der Voraussetzung beistimmen, dass die Verarbeitung zur Platte sehr bald der Einimpfung folge. Uebrigens erachte ich die ganze Anordnung für unbequem, weil die freie Mitführung einer einzigen Platinnadel oder -Oese genügt; sie kann über dem Cylinder einer brennenden Lampe, die überall zu haben ist, rasch sterilisiert werden.

Röhrchen mit Nährgelatine nebst Spiritusflamme zum Erweichen und leere Doppelschälchen mit, oder Röhrchen mit schräg erstarrtem Agar, noch vorteilhafter einige Doppelschälchen mit bereits ausgebreiteter und wieder erstarrter Agarschichte. Die Gelatine wird in der früher (S. 105) angegebnen Weise zu Platten, bei Mangel an Schalen zu Rollröhrchen (S. 111) — wenn es die Temperatur gestattet — verarbeitet; die Agarfläche wird mit (nicht zu viel!) Organsaft oder Flüssigkeit in nicht zu dicht stehenden und nicht die Gallerte einreissenden Strichen geimpft, wobei Agarschälchen umgekehrt — mit dem Boden nach oben — zum Schutz vor Luftverunreinigungen gehalten und, auf ihren Deckel gelegt, mit einem Schutz vor Staub (Blechkasten, Pappschachtel, Tuch, Papier) bedeckt werden (S. 117).

Ohne das Gepäck zu sehr zu belasten, lassen sich folgende **notwendige Gegenstände** in ein Kistchen oder Köfferchen verpackt, leicht in die Leichenhalle verbringen:

Eine Spirituslampe mit gutem Verschluss.

Eine Blechkapsel mit Pinzetten, Glasstäben, Scheren und Skalpellen, zusammen vorher im Trockenschrank ½ Stunde bei 160° sterilisiert. Auf dem Boden befindet sich Glaswolle zum Schutz der Instrumente gegen das Aufstossen. Die Instrumente müssen so eingelegt sein, dass nach der Oeffnung des Deckels die Stelle, wo sie angefasst werden, vorliegt. Skalpelle mit Holzgriffen leiden durch die Erhitzung sowohl am Stahl wie am Holz; entweder nehme man darum die Instrumente ganz aus Metall, oder glühe nur die Klingen kurz vor der Verwendung in der Flamme ab (neue brauchen es nicht zu sein).

Einige Reservepinzetten und -Skalpelle.

Platindraht, Platinöse, allenfalls auch -Speer.

Einige leere sterilisierte Reagensgläser.

Eine Anzahl Röhrchen mit Nährgelatine und schräg erstarrtem Agar.

Ein Gefäss zum Einstellen der Reagensgläser.

Sterilisierte Doppelschälchen, worunter etliche bereits mit Nähragar beschickt, in einer Schachtel wie bei Wasseruntersuchungen (siehe Fig. 134).

Objektträger und Deckgläser.

Einige Fläschchen mit weitem Halse, wohlverkorkt und mit verdünntem (ca. 60—70 %) Spiritus gefüllt.

Sublimatpastillen.

Nagelbürste und Handtuch.

Gummierte Etiketten, Streichhölzer, Bleistift und Stift zum Schreiben auf Glas.

Verfahren bei nicht keimfrei entnommenen Organen und Organteilen.

Verwickelter wird die Sache, wenn in irgendwelchen, zur Untersuchung übersandten Leichenteilen, die oft ohne alle Vorsichtsmassregeln entnommen wurden, und einen längern Transport durchgemacht haben, nach Krankheitserregern gesucht werden soll.

In jedem Falle ist bei einigermassen grössern Stücken zunächst die Aussenseite von Keimen zu befreien. Man wäscht erst etwa 10 Mi-

unten lang mit 5 %iger Karbolsäurelösung ab, dann lässt man das Stück 5 Minuten in 1 %iger Sublimatlösung liegen, legt es auf reines Fliesspapier und wartet bis oberflächliche Trocknung erfolgt ist (Löffler, K. M. 2. 151). Die Proben zur Aussaat werden möglichst aus dem tiefen Innern entnommen. Mit einem ausgeglühten Messer wird erst ein ausgiebiger, fast die ganze Länge des Organs durchtrennender Schnitt gemacht, auf der so gewonnenen Schnittfläche senkrecht zu ihr mit einem weitern geglühten Skalpell ein neuer, nirgends bis nahe an die Kapsel dringender Schnitt angelegt, mit einem frischen, geglühten Messer wieder ein senkrecht zum zweiten stehender dritter Schnitt ausgeführt (Gaffky, K. M. 2. 386). Dann erst wird mit steriler Pinzette, Platinnadel u. dgl. die Probe zur Aussaat und zur mikroskopischen Untersuchung herausgeholt. So lässt sich die Gefahr ausschliessen, Verunreinigungen von der Oberfläche her mitzuverschleppen. Die vorgängige Trocknung der Oberfläche ist durchaus nötig, damit nicht etwa Tropfen des Desinfektionsmittels in die Schnittfläche gelangend, das Ergebnis vereiteln.

Sind die Stückchen sehr klein, so unterlässt man besser die Waschung in desinfizierender Flüssigkeit und badet sie in mehreren (bis zu 10) Schälchen oder Gläschen mit sterilisiertem Wasser oder Nährbouillon (die dadurch nicht verloren ist, weil man sie durch Einstellung in den Dampf wieder keimfrei machen kann). Dann wird das Stückchen an der Innenwand eines Gelatineröhrchens mit dem Platindraht (oder zwischen zwei sterilisierten Glasplatten) ausgedrückt, der Saft zu Gelatineplattenaussaaten verwendet und mit dem ausgedrückten (oder einem andern) festen Teilchen die Oberfläche des in Doppelschälchen ausgebreiteten Nähragars (mit oder ohne Glyzerinzusatz) strichförmig geimpft. Zur mikroskopischen Untersuchung werden Ausstrichpräparate vom Organsaft oder Gewebe mit Teilchen gemacht, die dem zerquetschten Stückchen entnommen sind, wohl auch (während es geschützt vor Verunreinigungen liegt) rasch noch vor der Aussaat, um diese nach dem gefundnen Keimgehalt einrichten zu können.

Das zum Ausstrich verwendete Organteilchen wird schliesslich noch einem Tiere unter die Haut oder an einem andern Körperteile einverleibt.

In Fällen, wo man über den mutmasslichen Krankheitserreger gar keine Anhaltepunkte hat, ist die Untersuchung derartigen Materials meist nicht geeignet, zu bindenden Schlüssen zu führen. Wohl aber kann man von ihr noch Erfolg erwarten, wenn auf bestimmte Krankheitserreger gefahndet werden soll, zumal sich dann von vornherein eine passende Auswahl des Nährbodens und des Versuchstieres treffen lässt.

Noch besser ist man bei **Tierkrankheiten** daran, weil der Tierversuch, der bei verunreinigtem Material viel günstigere Aussichten gewährt, als die Kultur, hier eigentlich immer positiv ausfallen muss. Die Wahl des Thieres ist, wenn nicht pekuniäre oder andre Schwierigkeiten bestehen, hier schon von selbst gegeben; ausserdem sind aber die meisten Tierkrankheiten auf unsre gebräuchlichen Laboratoriumsversuchstiere übertragbar.

Sind die Versuchstiere der Impfung erlegen, so wird in der S. 165 geschilderten Weise verfahren.

Nachweis von Kleinwesen,

vornehmlich von Krankheitserregern, in einzelnen Körperteilen und ihren Ausscheidungstoffen nebst Beschreibung der häufiger vorkommenden Arten.

Haut.

Es finden sich hier eine grosse Anzahl von Kleinwesen aller Art, Bakterien, Sarcine, Hefen und Pilze. Vor allem kommen die Bakterien und die Pilze in Betracht, von denen wiederum die letztgenannten (Hyphomyceten) weitaus die grösste Rolle in der Ursache der bekannten Haut- und bei Haarkrankheiten, Pityriasis, Herpes tonsurans, Favus u. s. w. spielen.

Ueber die auf der äussern Oberfläche unsers Körpers lebenden Bakterien liegen eingehendere Untersuchungen von Bizzozero (V. 98. 441) und von Bordoni-Uffreduzzi (F. 4. 151) vor. Dieser fasste die schmarotzenden Kleinwesen mit dem Namen normale Hautmikrophyten zusammen, da sie einerseits nicht das lebende Material des Körpers für ihre Nahrung ausnützen, sondern auf Kosten der Stoffe der Hautausscheidung und -Abschälung leben, weshalb man sie scheinbar als Saprophyten betrachten müsste, und weil sie sich andrerseits auch in nicht ganz oberflächlich gelegnen Stellen, wie in den Haarwurzeln, in den Ausscheidungskanälen der Hautdrüsen aufhalten, überhaupt als Gäste auf dem lebenden Körper stehen.

Für den einfachen Nachweis der an der Hautoberfläche vorkommenden Kleinwesen, die besonders an den von Schweiss- und Talgdrüsen feuchtgehaltnen Oertlichkeiten sitzen (Nasenspitze, Penis, Hodensack u. s. w.), genügt es, ein Deckglas auf eine Stelle zu drücken, das demnächst ein paarmal über eine Flamme gezogen wird; dann wird die getrocknete Schichte mit Chloroform entfettet und mit einer der gebräuchlichen Anilinfarben gefärbt, worauf Tausende von Bakterien u. s. w. sich nachweisen lassen (Bizzozero).

Eine sehr reichliche Flora findet sich bekanntlich unter den Nägeln, deren Unterraum angesichts der Wichtigkeit für chirurgische und geburtshilfliche Eingriffe Gegenstand eingehender Untersuchungen geworden ist (Fürbringer, Mittmann, V. 113, 203 u. a.), ferner in den geschützt liegenden Hautfalten zwischen den Zehen, wo man namentlich nach den Erzeugern des widerlichen Geruchs der Schweissfüsse gesucht hat, ohne aber zu einem eindeutigen Ergebnis zu gelangen (Maggiora, Cr. 8. 13).

Die Färbung der Mikroorganismen in Haut und Haaren ist schwieriger, wie in andern Körpergeweben, da im Unterschiede davon das Horngewebe die Farbe hartnäckiger festhält, als die Bakterien es thun. v. Sehlen (F. 1. 23) benützte gerade diesen Umstand zu einer Differenzierung nach Art der Tuberkelbazillenfärbung nur in einem in der Wirkung umgekehrten Sinne; er liess die Mikroorganismen in der

Gegenfarbe erscheinen, er wandte, wie es Unna bezeichnete, eine „Kontrastfärbung farbloser Reste" an.

Zunächst wurden die Präparate — Haare — entfettet, kurze Zeit in Alkohol aufbewahrt und dann für mehrere bis 24 Stunden in möglichst dünne wässrige Anilinwasserfuchsin- oder Karbolfuchsinlösung gelegt. Dann folgte Auswaschung mit salzsauerm Alkohol und Entfernung des Ueberrestes der Säure mit destilliertem Wasser; schliesslich Doppelfärbung mit Methylenblau- oder Gentianaviolettlösung und Ausziehung mit absolutem Alkohol.

Die Färbung von Schnitten geschah durch eine starke wässrige Anilinwasserfuchsin- oder Karbolfuchsinlösung; ihr folgte Waschung mit salzsauerm Alkohol und destilliertem Wasser, längere Gegenfärbung in konzentrierter wässriger Gentianaviolettlösung; Ausziehung mit absolutem Alkohol; Terpentinöl; Balsam. Es zeigten sich dann die violett gefärbten Kokken in und an den Zellen des Oberhäutchens und zwischen denen der Wurzelscheiden, während der Haarschaft selbst dunkelrot gefärbt war und die Wurzelscheiden mit Ausnahme der blauen Kerne in den tiefer gelegnen Zellen schwach oder gar nicht gefärbt erschienen.

Epidermisschuppen werden nach Bizzozero zum Entfalten erst einige Stunden in Alkohol, darauf 1—2 Tage in Aether, dann wieder in Alkohol gelegt und nun am besten nach einem von Hueppe (Methoden 185) abgeänderten Verfahren gefärbt:

Auf ein Deckgläschen bringt man einen Tropfen 50 %iger Essigsäure und trägt die entfetteten Epidermisschuppen ein. Nach 1/4 Stunde oder mehr, wenn die Schuppen gut aufgequollen sind, werden sie mit Nadeln ausgebreitet, dann dampft man den Essig bei gelinder Wärme ab; zu dem Ende kann man das mit der Pinzette gefasste Deckglas hoch über einer Flamme hin und her bewegen. Nach dem Abdampfen wird das lufttrockne Präparat dreimal durch die Flamme gezogen und mit basisch Blau etwa 5 Minuten lang gefärbt. Dann wird sorgfältig ausgewaschen, getrocknet und in Balsam eingelegt.

Bessre Ergebnisse erzielte Boeck mit folgendem Verfahren (Fr. 6. 644): Die Epidermisschuppen u. s. w. werden in Alkohol und Aether entfettet, dann kommen sie für eine halbe bis einige Minuten in Sahlis Borax-Methylenblaulösung:

5 % Boraxlösung	16 Tl.
Konzentrierte wässrige Methylenblaulösung	20 „
Wasser	24 „

Hierauf 1/2—1 Minute in eine schwache wässrige Resorcinlösung (hergestellt dadurch, dass man einige Körnchen Resorcin in einem Uhrschälchen mit Wasser übergiesst). Aus der Resorcinlösung bringt man den Schnitt in Alkohol für einige Minuten bis zu 1 Stunde. In den meisten Fällen ist es dann noch nötig, die Epidermis zu entfärben. Hiezu bedient man sich einer schwachen Auflösung von Wasserstoffsuperoxyd, worin die Präparate aber nur ganz kurze Zeit, oft nur 15 Sekunden, bleiben dürfen. Alkohol; Xylol; Balsam.

Die ausgedehntesten Untersuchungen in dieser Richtung, wie überhaupt auf dem Gebiete der Forschungen über die Ursache von Hautkrankheiten, stellte Unna an (M. f. pr. D. 13. 225 und 286). Aus-

gehend von der Boeckschen Beobachtung suchte Unna möglichst spezifische Differenzierungsmittel für die Kleinwesen von der Hornmasse zu finden, und empfahl auf Grund seiner Studien eine Reihe von Verfahren, die, wie er angibt, die frühern an Leistungsfähigkeit übertreffen, freilich aber auch noch keine vollkommen befriedigenden Ergebnisse liefern.

A. Vorbereitende Massnahmen und Färbung.

An Chemikalien sind dazu erforderlich: Starke Essigsäure;
- Mischung von Alkohol und Aether, wie sie zur Einbettung in Celloidin gebräuchlich ist;
- Borax-Methylenblaulösung je 1 g auf 100 ccm destillierten Wassers.

Die betreffende Hornschuppe (Kruste, Komedo u. s. w.) wird mitten auf einen Objektträger gelegt und mit einem Tropfen Essigsäure befeuchtet. Sofort legt man einen zweiten Objektträger kreuzweise auf den ersten und zerreibt unter drehenden und drückenden Bewegungen die im Essig alsbald weich werdende Masse binnen wenigen Sekunden zu einem Brei, der etwa die 4—6fache Flächenausdehnung der frühern Hornmasse besitzt. Dann werden beide Gläser voneinander gehoben und rasch über der Flamme getrocknet, wobei der Essig wieder vollständig verdunstet. Die Objektträger ganz übereinander hinwegzuziehen, wie es bei Sputumpräparaten zu geschehen pflegt, muss man vermeiden, um die Gestalt der Hornzellen, die dabei in rollende Bewegung geraten würden, zu schonen. Die noch warmen (nicht heissen!) Gläser nimmt man der Reihe nach zwischen Daumen und Zeigfinger der linken Hand, die mit einem Tuch bedeckt ist, und klemmt sie in eine Falte des Tuches, hält sie etwas schräg aufwärts und giesst auf ihr oberes, freies Ende einige Tropfen Aether-Spiritus, deren Menge sich nach dem Fettgehalt des Materials richtet und die im Nu alles durch die Wärme verflüssigte Fett ins Handtuch abwärts spülen. Darauf tropft man sofort zwei Tropfen der Methylenblaulösung auf den Objektträger, deckt ihn wieder kreuzweise mit dem andern, wodurch diese geringe Menge der Farblösung sich schön und gleichmässig über das ganze Präparat ausbreitet, und hält die gekreuzten Gläser 10—20 Sekunden über die Flamme. Selbst wenn die Farbflotte ins Kochen gerät, trocknet sie zwischen den Objektträgern nicht am Rande ein und lässt sich deshalb mit Wasser nachher sauber abspülen. Die Präparate werden entweder gleich weiter entfärbt oder über der Flamme getrocknet.

Unna rät, wenn das Material an Menge sehr gering ist, es stets sofort nach der Entnahme, z. B. in der Sprechstunde, auf diese Weise zu fixieren, um es später in Musse weiter zu verarbeiten. Grössere Mengen kann man lufttrocken oder in Alkohol bis zur Untersuchung aufbewahren und kleine Teile davon unmittelbar aus dem Alkohol in den Essigtropfen bringen.

Unna versuchte seine Färbungen nicht bloss an solchen aus Schuppen, Haaren und Krusten hergestellten Druckpräparaten, sondern auch an Schnitten verschiedner Dermatosen (besonders Akne, Ekzem, Furunkel), sodann an eigens dafür hergerichteten Komedonenschnitten, deren Bearbeitung er also schildert:

Von frischen Komedonen werden die grössten und geradesten Muster ausgesucht und unentfaltet, wie sie sind, alle mit den Köpfen nach oben in eine mit warmer Agarlösung ausgegossne Rinne versenkt. Die Rinne wird hergestellt durch zwei dicht aneinander mit einer Harzwachsmischung auf Glas aufgeklebte, etwa 1 cm hohe Glasleisten, deren Zwischenraum etwa 2 mm beträgt und an beiden Enden ebenfalls durch vorgeklebte Glasleisten geschlossen wird. Der Agar erstarrt nach einigen Minuten, wenn man die Glasplatte, die während des Einsenkens warm (z. B. auf Dampf) stehen muss, erkalten lässt. Man zieht nun die Glasleisten weg und hat ein durchsichtiges Agarplättchen, worin alle Komedonen in derselben Richtung liegen. Es wird in kleine Stücke zerschnitten, die je 2—3 Komedonen enthalten, und diese kommen dann in Alkohol, Aether und Celloidin, wobei sie zugleich entfettet werden. Die daraus mit dem Mikrotom leicht in Masse zu erhaltenden feinsten Schnitte geben — jeder einzeln — ein brauchbares Objekt zum Studium der verschiedensten Hornpilze.

B. Differenzierung der mit Borax-Methylenblaulösung gefärbten Präparate. Zehn verschiedne Methoden hat Unna dazu angegeben, wovon ich drei wiedergebe:

1. Die Seifenmethode.

Druckpräparate:		Schnitte:	
Boraxmethylenblau	2 Min.	Boraxmethylenblau	2 Min.
1% neutrale wässrige Seifenlösung	5 Sek.	Seifenlösung	15 Sek.
Abspülung in Wasser.		Wasser	10 Sek.
„ „ Alkohol.		Absoluter Alkohol	1—2 Min.
Trocknung über der Flamme.		Oel (Cedern- oder Bergamottöl).	
Balsam.		Balsam.	

2. Die Resorcinmethode.

Boraxmethylenblau . . .	5 Min.	Boraxmethylenblau	5 Min.
5% wässrige Resorcinlösung	10 Sek.	Resorcinlösung	2 Min.
1% Oxalsäurelösung . . .	10—20 Sek.	Oxalsäurelösung	15 Sek.
Abspülung in Wasser.		Wasser.	
„ „ Alkohol.		Alkohol.	
Trocknung über der Flamme.		Oel.	
Balsam.		Balsam.	

3. Kochsalz-Wasserstoffsuperoxyd-Methode.

Boraxmethylenblau	5 Min.	Boraxmethylenblau . . .	2 Min.
1% Kochsalzlösung	5 Sek.	1% Kochsalzlösung . .	15 Sek.
Abspülung in Wasser.		3% Wasserstoffsuperoxydlösung	10 Sek.
„ „ Alkohol.		Absoluter Alkohol . . .	10—20 Sck.
3% Wasserstoffsuperoxydlösung	5 Sek.	Oel.	
Abspülung in Alkohol.		Balsam.	
Trocknung über der Flamme.			
Balsam.			

Die hier gebrauchte Wasserstoffsuperoxydlösung wird am besten vor Gebrauch neutralisiert. Wählt man jedoch andre Salze, z. B. 1%ige Boraxlösung oder 1%ige Kaliumpermanganatlösung, so genügt die (saure) käufliche Lösung.

Alle Salzmethoden liefern leicht Salzfarbstoffniederschläge, die man durch sorgfältige Abspülung mit Wasser und Alkohol zu entfernen hat, oder schliesslich stets mit Anilinöl fortbringt. (S. auch das Gramsche Verfahren S. 48.)

Die Züchtung der Oberhautpilze

gelingt auf den gebräuchlichen Nährboden in den meisten Fällen, wenn auch nicht in der bestmöglichen Weise. Desto schwieriger ist es oft um die Deutung der Ergebnisse hinsichtlich der ursächlichen Rolle der gefundnen Arten gegenüber der Erkrankung. Wie oft schon ist der von dem einen Forscher als die Ursache einer Hautaffektion hingestellte Pilz von einem andern als harmloser Schmarotzer erklärt worden! Nicht wenig trug zur Vermehrung der Schwierigkeiten die Thatsache bei, dass bei ein und derselben Krankheit, besonders beim Favus, mehrerlei verschiedne Arten aufgefunden wurden, während wir für gewöhnlich voraussetzen, dass einem umschriebnen Krankheitsbild auch nur ein einziger Erreger zukomme. Wer derartige Untersuchungen anstellt, möge sich zum Vergleich mit den seinigen die Originalkulturen der Autoren zu verschaffen suchen. Speziell Unna hat sich erboten, jedem Favusforscher die Reinkulturen der von ihm isolierten Favuspilze zum Selbstkostenpreise auf Verlangen zu senden (M. f. pr. D. 14. 1).

In dieser Zeitschrift (16. 1), sowie im C. 13. 1 sind von Neebe und Unna neun Arten von Hyphomyceten des nähern beschrieben, die, bei Favus gefunden, die Eigenschaft besitzen, diese Krankheit wieder zu erzeugen, ohne dass die beiden Gelehrten glauben, sämtliche vorkommende damit erschöpft zu haben. Ausser durch einen botanischen Namen werden sie teilweise durch den Ort ihrer Herkunft — Hamburg, Böhmen, Polen, Schottland, Sardinien, Batavia — gekennzeichnet und unterschieden (Näheres s. im Orig.). Je nach den verschiednen Himmelsstrichen sind also die Erreger der fraglichen Krankheit verschieden, fast alle Länder haben ihre eigne Favusspezies ausgebildet, ihre Erforschung bietet somit auch Interesse für die geographische Pathologie. Zu einem Schlusse auf die Uebertragung des menschlichen Favus genügt es fortan nicht mehr, bloss festzustellen, dass in der Nachbarschaft bei einem Tier Favus nachgewiesen wurde, sondern es muss im Einzelfalle auch die Identität beider Favusarten festgestellt werden.

Von den diesbezüglichen interessanten Beobachtungen der beiden Hamburger Forscher möge hier folgende angeführt werden: „Ein Knabe aus Dr. Unnas Klinik, welcher nie in Polen gewesen war, trug dasselbe Achorion tarsiferon, das wir durch eine Scutulasendung des Kollegen Funk aus Warschau erhalten hatten. Eine schärfere Anamnese ergab nun in der That, dass dieser Knabe in England gewesen und dort mit Kindern polnischer Auswanderer verkehrt hatte, die mit Favus behaftet gewesen sein sollen.“

Unna hat die gebräuchlichen Methoden in mancher Hinsicht für die Züchtung der Oberhautpilze zweckmässig abgeändert. Nachdem sich ihm die frischen Nährboden um so geeigneter erwiesen hatten, je trockner sie waren, stellte er eine konzentrierte Agarlösung her aus

Agar	4 Tl.
Pepton	1 „
Traubenzucker . . .	5 „
Kochsalz	0,5 „
Wasser	100 „

Des hohen Agargehaltes wegen ist Unnas Dampftrichter (S. 62) bei der Bereitung kaum zu entbehren*).

Bei sehr unreinem Ausgangsmaterial lässt man die Agarnährlösung besser unneutralisiert, ganz schwach sauer, weil Favuspilze auf sauern Boden ein gleichzeitiges Kokkenwachstum leichter überwinden.

Hat man von Scutulis abzuimpfen, so werden sie an ihrer Unterseite mit dem sterilisierten Platinspatel zur Befreiung von der äussern Schichte tüchtig abgekratzt, dann kleinste Teilchen mit dem nochmal sterilisierten Platinspatel abgeschabt und in Form je eines langen Striches auf mehrere Agarröhrchen übertragen. Die Kulturen kommen immer in den Brutschrank (37 °).

Sollen Haare verimpft werden, so sengt man ihre Spitzen bis nahe zu den Wurzeln ab und überträgt diese auf das trockne Ende der schräg erstarrten Agarsäule.

Platten zu giessen, fand Unna nicht für nötig. Gehen, was oft geschieht, Ansiedlungen von Bakterien gleichzeitig auf, so sieht man sie doch schon in einigen Tagen von Mycelien der Pilze überwuchert; impft man dann bloss vom Rande ab, so erhält man bei der zweiten Uebertragung bereits regelmässig Reinkulturen, selbst von weither verschicktem Material.

Die beste Art, Favusmaterial kulturfähig aufzubewahren und allenfalls zu versenden, ist nach Unnas Erfahrungen diese: Man drückt ein gutklebendes Pflaster auf den kurzgeschornen Favusfleck, der zuvor tüchtig mit grüner Seife gewaschen und sonst desinfiziert ist. Zieht man das Pflaster nach einiger Zeit mit einem Ruck ab, so trägt es an seiner Unterseite einen Wald von Härchen, darunter viele pilzhaltige. Nun klebt man das Pflaster in den Deckel einer sterilisierten kleinen Dose (z. B. von Blech), so dass die Härchen frei herabhängen, und schliesst sie wieder. So trocken aufbewahrt, ist der Favus noch nach Wochen vollkommen kulturfähig. Bei feuchter Aufbewahrung dagegen nehmen die Bakterien, in den ausgezognen Haaren wuchernd, überhand und bringen die Mycelpilze zum Absterben.

Von den auf obige Art gewonnenen Pilzkulturen werden zur Erkennung ihrer morphologischen Eigenschaften kleine Teilchen in Röhrchen mit verflüssigtem, auf 40 ° abgekühltem Nähragar übertragen und damit erst an der Innenwand verrieben, dann durch Schütteln darin verteilt. Der Inhalt wird dann zum Teil in zwei leere sterilisierte Röhrchen übergegossen, dann werden die drei Proben horizontal wenigstens 1 Stunde hineingelegt, bis sie ganz starr geworden sind, und endlich dem Brutschranke übergeben.

Ausser solchen Minimalkulturen (s. S. 279) können welche im durchlochten Objektträger angelegt werden. Je nach den hier wahrnehmbaren Wachstumsverhältnissen kann man beobachten: sog. Bodenhyphen, die auf oder nahe der Oberfläche hinkriechen; Wurzelhyphen, die wurzelartig in den Nährboden eindringen, und Lufthyphen, die sich frei vom Boden strauch- oder baumartig er-

*) Sabouraud erklärt für Herpestonsuransarten Agarboden mit Bierwürze als am geeignetsten (H. 3. 544).

heben. Ferner lassen sich unterscheiden: ein Zentralkegel, Fruchtträger, Luftsporen, Sporenketten, Sporenträger, quirlständiger Bau, handförmiger Fruchtstand u. s. w., Dinge, die Unna näher geschildert und durch Photogramme illustriert hat (M. f. pr. D. 11. 817).

Die Ueberimpfung der Reinkulturen der Pilze

zur Beibringung des letzten Beweises ihrer krankheitserregenden Eigenschaft, kann auf die gebräuchlichen Tiere, Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse geschehen, indem ihnen nach Abscherung der Haare an einer bestimmten Stelle und nach Desinfektion der Haut die Kultur in die Oberhaut eingerieben und die so behandelte Stelle mit einem passenden Schutzverbande bedeckt wird.

Die Erzeugung, im besondern der Favuskrankheit bei Mäusen, gelang Unna auf die einfachste Weise durch Fütterung mit Kulturen, und zwar setzte die bezeichnende Erkrankung zuerst an der Schnauze ein. Die natürliche Art der Uebertragung und der sichre Erfolg übertrafen den Mangel, dass der Zeitpunkt der Einimpfung nicht mit voller Genauigkeit bestimmt werden konnte.

Der Mensch hat niemals so oft als Versuchsobjekt für die Uebertragung von Reinkulturen gedient, als gerade beim Studium der Hautkrankheiten. Zumeist stellten die Forscher an sich selbst die Versuche an.

Unna (a. a. O. 10. 465) befolgte bei den seinigen den Grundsatz, die sporenhaltige Reinkultur nur sanft einreibend auf die mit Seife, Wasser und Alkohol, nicht mit Sublimat gereinigte, ungereizte und ungeritzte Haut (gewöhnlich des linken Vorderarms) zu bringen, die Stelle mit einem Stückchen sterilisierten Guttaperchapapiers zu bedecken und dieses festzuleimen. Die undurchlässige Bedeckung erzeugte genügende Feuchtigkeit und Quellung der Hornschicht, zuweilen sogar ein Erythem oder eine Miliaria rubra. Nach 3—4 Tagen wurde der Verband entfernt und die Hautstelle sich selbst überlassen.

L. F. Frank machte die Pilzeinreibung in die vorher gereinigte, gering behaarte Haut mit einem sterilen Platinspatel, ohne die Oberhaut zu verletzen, umgab die thalergrosse Stelle mit einem Wall von Zinkleim, legte ein Stückchen Seidenpapier darauf und überstrich das Ganze mit Zinkleim. Der Verband wurde erst entfernt, wenn sich ein Gefühl von Brennen und Jucken geltend machte (M. f. pr. D. 12. 254).

Für den Erfolg ist zu bemerken, dass ein negativer Ausfall der Impfung nicht beweisend ist. Denn viele Pilze gedeihen auf vielen Oberhäuten nicht, auf andern üppig. Die Individualität spielt gerade bei den „parasitären" Parakeratosen“ eine sehr grosse Rolle.

Bösartige Geschwülste der Haut sind ebenso, wie die an andern Teilen des Körpers befindlichen, ihrer Ursache und Entstehung nach noch wenig aufgeklärt. Die histologischen Untersuchungen geben hier allein den diagnostisch verwertbaren Aufschluss. Den Untersuchungen auf Kleinwesen mangelt zum gleichen Ende noch eine feste Unterlage, die aber allmählich im Werden ist. Denn der Streit über die parasitäre Natur der Krebserkrankung neigt sich in seiner Entscheidung auf die Seite der Forscher, die die Protozoen, jene kleinsten dem Tierreich zugehörigen Lebewesen, als Veranlasser annehmen. L. Pfeiffer,

der mit die umfangreichsten und eingehendsten Forschungen betreibt und deren Ergebnisse u. a. in seinem Werke „Untersuchungen über den Krebs. Die Zellerkrankungen durch Sporozoen“ und in dem dazu gehörigen mikrophotographischen Atlas niedergelegt hat (Cr. 13. 618), rechnet die Erreger zur Gruppe der „Amöbosporidien“; nach ihm setzt sich das, was man als Krebszelle bezeichnet, aus eigentlichen Epithelzellen und ausserdem aus den in der Peripherie verbreiteten ausgewachsnen Zoosporen zusammen.

Lepra der Haut. Die ums Jahr 1880 von Hansen und Neisser entdeckten Leprabazillen lassen sich, wie in allen leprös erkrankten Geweben, so auch in der Haut finden; Untersuchung von Blut aus Lepraknoten liefert immer positive Ergebnisse. Von Tuberkelbazillen sind sie der Gestalt und dem färberischen Verhalten nach kaum zu unterscheiden, am ehesten noch durch ihre Anordnung. Denn die Leprabazillen erscheinen angelagert an die Plasmazellen, in eigentümlichen Haufen, meist in gleicher Richtung angeordnet, eingebettet in schleimige Massen, die aus Bazillenschleim, aus atrophischem Zellprotoplasma und aus nackten Zellkernen bestehen, einen Komplex von tierischer und pflanzlicher Substanz, den die meisten Untersucher in missbräuchlicher Erweiterung des Begriffes Zelle mit dem Namen Leprazelle zu bezeichnen pflegen. Eine deutliche Erkennung dieser Verhältnisse gestattet die Unnasche „einzeitige Doppelfärbung mit polychromer Methylenblaulösung“ und Entfärbung mit konzentrierter wässriger Tanninlösung, allenfalls unter Zuhilfenahme verdünnter Säuren. Sie ist nur für Schnitte, nicht für angetrocknete Präparate, und wird folgendermassen ausgeführt (M. f. pr. D. 16. 399):

Polychrome Methylenblaulösung (von Dr. Grübler-Leipzig) 10 Minuten bis einige Stunden.
Abspülung in Wasser.
33%ige wässrige Tanninlösung 2 bis 5 Minuten.
Sorgfältige Abspülung in Wasser.
Absoluter Alkohol
oder 25%ige Salpetersäure, verdünnter Spiritus, Wasser, absoluter Alkohol.
Oel. Balsam.

Die Massenhaftigkeit der Bazillen, ihre eigentümliche Lage, die fischrogenartigen Anhäufungen der schleimigen Massen der Lepraklumpen, verbunden mit dem klinischen Bilde, gewähren eine gewisse Sicherheit der Diagnose, die allerdings beeinträchtigt wird, wenn gleichzeitige Erkrankung an Lepra und Tuberkulose vorliegt.

Für eine diesbezügliche Auseinanderhaltung stellte Philippson (V. 132. 529) aus der Literatur folgende Tabelle zusammen:

Die lepröse Neubildung	Die tuberkulöse Neubildung
besteht aus Virchows Vakuolenzellen und selten aus Riesenzellen.	besteht aus Rundzellen, epitheloiden und den typischen Riesenzellen.
Diese Elemente sind gleichmässig nebeneinander gelagert.	Diese Elemente gruppieren sich zu Knötchen.
Bei etwaigem Rückgang einfacher Zerfall.	Typische Verkäsung.
Massenhafte Bazillen.	Spärliche Bazillen.
Bazillen liegen in Verbänden.	Bazillen liegen solitär.

Nur von Danielssen ist bis jetzt der mikroskopische Nachweis erbracht, dass in einem und demselben Organe Lepra und Tuberkulose nebeneinander bestehen können. Man soll darum in jedem einzelnen Falle von Lepra bei der Untersuchung der Gewebe diese Möglichkeit in Erwägung ziehen, wie es Philippson in seiner eben erwähnten Arbeit that.

Alle Versuche, die Leprabazillen auf künstlichen Nährboden zur Entwicklung zu bringen, sowie sie aufs Tier oder auf den Menschen zu übertragen, sind — im Gegensatz zu denen mit tuberkulösem Materiale — als gescheitert anzusehen. Man hat deshalb angenommen, sie seien in den Knoten bereits abgestorben, zumal in Anbetracht der Erfahrung, dass die in die vordere Augenkammer von Kaninchen z. B. einverleibten, (durch Alkohol) abgetöteten Bazillen von Leukocyten aufgenommen und verschleppt, auch unter diesen Umständen ihre Form und Färbbarkeit beibehalten, was bei den Tuberkelbazillen nicht der Fall.

Hinsichtlich aller der mannigfaltigen Einzelheiten und Literaturangaben verweise ich auf den zusammenfassenden Bericht über den Stand unsrer Kenntnisse des Leprabazillus von Wolters (C. 13. 469).

Als Lepra scheinen auch Krankheitsformen anzusprechen zu sein, die man früher als Syringomyelie oder als Morvansche Krankheit beschrieb (Zambaco, H. 3. 680).

Tuberkulose der Haut wird häufig in Gestalt des sog. Lupus beobachtet. Die „Leichentuberkeln“ oder „Leichenwarzen“ sind nicht immer tuberkulöser Natur (Baumgarten, J. 1. 80 Anm.; Polloson, C. 5. 135); doch wurden in solchen Gebilden auch zweifellose Tuberkelbazillen nachgewiesen (Baumgarten [J. 1. 80] beobachtete Tuberkeln in ihnen schon im Jahre 1874). Finger, der darin Tuberkelbazillen neben Streptokokken fand, unterscheidet die Leichenwarze vom Lupus — zwei sonst frappant ähnliche Affektionen — durch den Sitz der miliaren Tuberkel, die dort ausschliesslich in den Cutis, hier auch im subkutanen Gewebe vorhanden sind (D. 88. 85).

Die Diagnose wird (ausser durch Tuberkulininjektionen) durch den Nachweis der Tuberkelbazillen gesichert. Leider sind sie oft so vereinzelt zugegen, dass ein negativer Ausfall der mikroskopischen Untersuchung durchaus nicht auf die Abwesenheit der Bazillen schliessen lässt, eine Regel, die allgemeine Gültigkeit hat.

Die Färbung von Saftausstrichen u. dgl,, sowie von Schnitten aus herausgenommenen Gewebestückchen erfolgt nach dem gleichen Verfahren, wie sie später beim Nachweise der Tuberkelbazillen im Auswurf und in Organen eingehend Berücksichtigung finden werden.

Die Züchtung von Tuberkelbazillen aus Lupusstückchen ist wegen der damit verbundnen Schwierigkeiten überhaupt, die durch das Vorhandensein von andersartigen Bakterien hier noch vermehrt ist, zu diagnostischen Zwecken wenig empfehlenswert. Zu wissenschaftlichen Untersuchungen über die Aetiologie der Tuberkulose ist sie bereits von Koch mit Erfolg ausgeführt worden.

Ein sichres und jederzeit ohne besondre Mühe anwendbares Mittel zur Erkennung jeder tuberkulösen Affektion ist der Tierversuch, zu dem sich am meisten die Meerschweinchen eignen. Von dem verdächtigen Materiale braucht man nur ein Stückchen dem Tiere unter

die Bauchhaut zu bringen, oder, wenn angängig, mit sterilem Wasser fein zerrieben in die Bauchhöhle zu spritzen: nach 6 Wochen wird im gegebnen Falle die Tuberkulose sicher nachweisbar sein; das untrüglichste Zeichen, dass sie von der Impfstelle ausgegangen ist, hat man in der Erkrankung der zunächst gelegnen Lymphdrüsen, von wo aus man das Vordringen der tuberkulösen Erkrankung verfolgen kann.

Für eine Differentialdiagnose zwischen Tuberkulose und Syphilis, sei es bei lupösen oder andern Erkrankungen, kann lediglich der Nachweis der Tuberkelbazillen verwertet werden. Eine auch nur annähernd gleich sichre Untersuchungsmethode auf Syphilis steht uns nicht zu Gebote, da der Erreger dieser Seuche so gut wie unbekannt ist. Denn die Lustgartenschen Bazillen sind als solche recht fraglich, ja man behauptet, dass sie nichts andres wie Tuberkelbazillen seien; Sabouraud (P. 6. 184) stellte fest, dass gerade die Lustgartensche Methode für den Nachweis von Tuberkelbazillen in Organen sehr geeignet sei, und es gelang ihm, mit einem anscheinend sicher syphilitischen Gumma, bei dem sie ein positives Ergebnis lieferte, Tuberkulose beim Meerschweinchen hervorzurufen. Eine Reinkultur des syphilitischen Ansteckungsstoffs auf künstlichen Nährboden ist niemals geglückt, ebensowenig die Erzeugung einer Erkrankung von Tieren durch Ueberimpfung syphilitischer Produkte, was sich leicht erklären lässt, da man noch niemals bei irgend einem Tiere eine spontane Erkrankung gesehen hat, die sich in ihren Erscheinungen mit der weitverbreiteten menschlichen Seuche gedeckt hätte. Klebs will zwar bei einem Affen durch Uebertragung sogar von vermeintlichen Kulturen des Syphilisbazillus syphilitische Erscheinungen gesehen haben, ist aber mit diesem, wahrscheinlich auf eine Tuberkulose zurückzuführenden Befunde bis heute vereinzelt geblieben.

Im **syphilitischen Geschwür** findet sich eine grosse Anzahl von Bakterien, die sich nachträglich angesiedelt haben und die, wenn ihnen krankheitserregende Eigenschaften zukommen (Strepto-, Staphylokokken), zu sekundären Eiterungen Veranlassung geben können. In erster Linie werden auf dem krankhaft veränderten Gewebe solche Bakterien zur Entwicklung gelangen, oder wenigstens wieder zu finden sein, die schon unter normalen Bedingungen am Orte vorhanden sind. Es gibt nun, wie von Alvarez und Tavel, von Klemperer, Matterstock und Bitter nachgewiesen, im Smegma Bazillen, die nach Anwendung des Lustgartenschen Verfahrens die Farbe behalten, wie die vermeintlichen Syphilisbazillen, so dass von irgend einer diagnostischen Verwertung vollends nicht mehr die Rede sein kann.

Da aber diese und ähnliche Methoden immerhin eine gewisse Bedeutung für die Färbekunst besitzen, auch unter Umständen zur Anwendung gelangen, lasse ich ihre Beschreibung folgen:

Lustgarten*) färbte die Schnitte erst 12—24 Stunden bei Zimmerwärme, dann noch 2 Stunden im Wärmekasten bei 40° mit Ehrlich-Weigertscher Anilinölwassergentianaviolettlösung; dann

*) Medizin. Jahrbücher der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien. 1885. S. 89.

wurden sie zur Entfärbung für 10 Sekunden in ein Uhrschälchen, mit etwa 3 ccm einer 1,5 %igen wässrigen Lösung von übermangansaurem Kali, hierauf in eine wässrige Lösung von reiner schwefliger Säure übertragen, die durch Behandlung von metallischem Kupfer mit Schwefelsäure gewonnen worden war. Danach: Abspülung in Wasser, nochmalige Einlegung für 3—4 Sekunden in Kaliumpermanganatlösung, sowie in die schweflige Säure u. s. w. bis der Schnitt farblos geworden, was etwa nach 3—4maligem Turnus der Fall. Entwässrung in Alkohol, Aufhellung in Oel, Einschluss in Xylolkanadabalsam.

Zur Untersuchung von Sekreten wurden Deckglaspräparate in gleicher Weise gefärbt, mit Wasser (nicht mit Alkohol!) gespült und abwechselnd der Einwirkung von Kaliumpermanganat und schwefliger Säure ausgesetzt, nur entsprechend der dünnern Schicht weniger lang.

De Giacomi hat jenen Grundsatz der Entfärbung durch Oxydation auf bequemere Weise erreicht: Nach gewöhnlicher Fixierung in der Flamme werden die Deckglaspräparate wenige Minuten in Fuchsinlösung erwärmt, in Wasser mit Zusatz einiger Tropfen einer Eisenchloridlösung abgespült und in konzentrierter Eisenchloridlösung entfärbt. Die fraglichen Bazillen bleiben rot, die andern vorhandnen Bakterien sind farblos und können beliebig gegengefärbt werden*).

Gottstein (F. 3. 545) wandte diese Methode auf Schnitte von Sklerosen und Gummata an: Nach 24stündiger Fuchsinfärbung Abspülung in dest. Wasser, Uebertragung in reine oder verdünnte Lösung von Eisenchlorid, Alkohol, Nelkenöl, Xylol, Balsam. Der Schnitt hatte dann eine hellviolette, gleichmässige Färbung, die Kerne waren farblos, vorhandne Stäbchen aber oft nicht rot, sondern dunkelviolett.

Doutrelepont und Schütz haben unabhängig von Lustgarten ebenfalls Bazillen in syphilitischen Produkten auf noch einfachere Art sichtbar gemacht, nämlich durch 20—48stündige Vorfärbung in 1%iger wässriger Lösung von Gentianaviolett, Entfärbung in verdünnter Salpetersäure (1 : 15 Wasser) wenige Sekunden lang, Einlegung in absoluten Alkohol, Unterfärbung mit schwacher, durchsichtiger, wässriger Lösung von Safranin für einige Minuten; 60 %iger Alkohol, dann absoluter, jedesmal wenige Sekunden, Zedernöl, Kanadabalsam (D. 85. 320 und 812). Lewy, der in seiner unter Doutreleponts Leitung gefertigten Dissertation eine differential-diagnostische Tabelle für Syphilis- und Smegmabazillen brachte (Cr. 5. 645), bevorzugte Karbolfuchsin zur Färbung, Fordyce (Cr. 5. 212) die Kühnesche Krystallviolettlösung. Wie man sieht, Verfahren, die auch Tuberkelbazillen färberisch darzustellen imstande sind.

Beim **weichen Schankergeschwür** scheint dagegen ein Streptobazillus nach Unnas Untersuchungen jedesmal gefunden zu werden, dem möglicherweise noch die Anerkennung als der Erreger dieser Krankheit zu teil werden kann. Vielleicht ist es derselbe, den Ducrey schon früher erhielt, als er den Eiter typischer Schankergeschwüre von Arm zu Arm unter geeignetem Schutzverbande durch viele Generationen fortimpfte; die Zahl der ursprünglich vorhandnen Arten verminderte sich dabei fortwährend, bis schliesslich nur noch eine einzige Stäbchenart vorhanden war, die auf künstlichen Nährboden anging.

Das Unnasche Färbeverfahren ist das von ihm zur Darstellung von Plasma-, Mastzellen und Hornbakterien geübte (M. f. pr. D. 14. 485):

---

*) Korrespondenzblatt für Schweizer Aerzte. 85. 470. r. J. 1. 96.

Behandlung der aus Alkoholhärtung kommenden Schnitte mit basisch Blau und Entfärbung durch Glyzerinäthermischung oder Styron.

Erstere ist bei Schuchardt (Görlitz) vorrätig. 100 g = 1.50 M.

Styronzimmtalkohol $C_9H_{10}O$ ist im Styron und Perubalsam vorhanden und krystallisiert in dünnen Nadeln. Für den histologischen Gebrauch ist die auch im Handel befindliche dickflüssige Form vorzuziehen, teils ihrer Konsistenz, teils des geringen Preises halber. Die Flüssigkeit hat einen eigentümlichen Geruch nach Mispeln; sie ist mit Wasser und Glyzerin nicht, dagegen leicht mit Alkohol, Aether, ätherischen Oelen und selbst direkt mit Balsam mischbar.

Man bringt die stark überfärbten Schnitte auf den Objektträger, trocknet rasch mit Löschpapier ab und gibt sofort einen Tropfen der Glyzerinäthermischung darauf, der in wenigen Sekunden die Entfärbung vollendet. Dann wieder Trocknung mit Löschpapier, Alkohol bis zur vollständigen Entwässrung, Bergamottöl, Balsam.

Als Farbflotte zieht Unna alte Lösungen den frischen vor; er empfiehlt folgende:

Kali carbonici	1,0	adde:
Methylenblau	1,0	Methylenblau 1,0
Aq. dest.	100,0	Boracis 1,0
Spiritus	20,0	in aq. dest. 100,0 soluta misce.
M. coque ad remanent.	100,0	S. Zusammengesetzte Methylenblaulösung.

Die ganze äussere Zone des weichen Schankers findet man dann mit kleinen Stäbchen erfüllt, die überall ein wenig über die Grenze des absterbenden Gewebes hinaus in das noch lebende Plasmagewebe gehen, aus dem sich der weiche Schanker fast ausschliesslich aufbaut. Der Bazillus ist klein und kurz, seine Enden sind nicht abgerundet, am bezeichnendsten ist für ihn die merkwürdige Art, in Form von Ketten (Photogr. Taf. V Nr. 27) im Gewebe zu erscheinen.

Petersen (C. 13. 746) warnt insbesondre vor der schädigenden Verwendung von Alkohol; nach der Färbung behandelte er mit Anilinöl (3—10 Minuten) und ½—3 Stunden mit gleichen Teilen Anilin und Xylol. Auch mit der Nicolleschen Tanninbehandlung der gefärbten Schnitte (S. 51) erhielt er gute Erfolge, nur weniger scharfe, mehr blassblaue Färbung.

Rotzgeschwüre fordern, wenn sie beim Menschen vorkommen, die Unterscheidung zwischen Syphilis und bösartiger Form der Hauttuberkulose nicht selten heraus. In den fast nur an den Gliedmassen in der Haut, wie in der Muskulatur vorkommenden Abscessen, sowie in den gummiähnlichen oder ölartigen Eiter (Joseph D. 93. 424) absondernden, fressenden Geschwüren der Nase, des Gaumens und der Lippen sind die von Löffler und Schütz (D. 82. 52) ermittelten, an Grösse den Tuberkelbazillen nachstehenden, unbeweglichen Rotzbazillen vorhanden. Durch die einfache Färbung sind sie jedoch von andern im Eiter enthaltnen ähnlichen Formen nicht zu unterscheiden, und durch das direkt eingeleitete Kulturverfahren die Rotzdiagnose stellen zu wollen, wäre zu umständlich, zumal da notwendigerweise ein Tierversuch angeschlossen werden müsste. Man geht gleich von vornherein an ihn heran, und kann, namentlich beim lebenden verdächtigen Tier, gleichzeitig Malleïneinspritzungen vornehmen. Als

die geeignetsten Versuchstiere sind, da Pferde und Esel selten dazu verfügbar sein werden, die Feldmäuse und vor allem die männlichen Meerschweinchen anzusehen, einmal wegen der bald in die Erscheinung tretenden bezeichnenden Hodenschwellung und ferner, weil Meerschweinchen für septische Infektionserreger, die so häufig nebenbei in Rotzgeschwüren vorkommen, verhältnismässig wenig empfänglich sind. Der Einverleibung des verdächtigen Materials in die Bauchhöhle, wie sie von Strauss*) empfohlen wurde, folgt die Erkrankung der Scheidenhaut des Hodens schon nach 2—3 Tagen. Finkelstein (C. 11. 433) bewies die praktische Anwendbarkeit dieses Verfahrens u. a. durch folgenden Versuch: Nasensekret eines rotzkranken Pferdes wurde mit 4 Teilen sterilisierter Bouillon verdünnt und davon ½—2 ccm Meerschweinchen entweder unter die Haut oder in die Bauchhöhle gespritzt: in ersterm Falle bildeten sich erst nach 2 Wochen Abscesse, ja ausnahmsweise heilten sie sogar aus, in letzterm Falle trat der Tod schon nach 4 Tagen ein; ein Tier hatte zwar keine Hodenschwellung, aber im Omentumabscess fanden sich die Rotzbazillen; das andre wies bereits am 2. Tage die Hodenschwellung auf. Bei Verimpfung von Unterkieferdrüsen, die einem Pferde zum Zweck der Diagnose ausgeschnitten worden waren, erwies sich eine intraperitoneale Einspritzung von ¼ ccm der Verreibung eines Teilchens mit Bouillon als unzureichend — man darf also hier nicht zu geringe Mengen nehmen — ein Stückchen der Drüse selbst, einem Meerschweinchen unter die Haut gebracht, hatte Rotzabscesse an der Impfstelle mit tödlichem Ausgang nach 24 Tagen zur Folge.

Solche Abscesse können auch bei Einspritzungen in die Bauchhöhle entstehen, wenn man nicht in vorsichtiger Weise die Einstichstelle vor der Berührung mit dem infektiösen Materiale schützt. Sie sind aber hinsichtlich einer leichten Verstreuung des gefahrbergenden Stoffs im Stalle, für das Wärterpersonal und den Versuchenden selbst sehr bedenklich, da der rotzbazillenhaltige Eiter mit dem Felle des Tiers, wie mit der Streu in ausgedehnte Berührung kommt, so dass man kaum wagen darf, das Tier und seine Umgebung mit ungeschützten Händen zu berühren.

Aus dem Befunde, den das der Probeimpfung erlegne Tier bietet, ist es nun ohne besondre Schwierigkeit möglich, die Diagnose zu stellen. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen an den äussern Bedeckungen und besonders an den innern Organen, sowie das Vorhandensein der Rotzbazillen in Ausstrichpräparaten aus den jungen Rotzknötchen oder ältern Abscessen reichen gewöhnlich zur Gewinnung eines Urteils aus. Jedoch soll niemals die Anlegung von Reinkulturen aus dem Tierkörper versäumt und zu aller Sicherheit von der gewonnenen Kultur ein neues Tier geimpft werden.

Die Färbung der Rotzstäbchen im Ausstrich verlangt einen guten Farbstoff, genügend lange Einwirkung und ein recht dünnes Präparat, damit eine Ueberfärbung des Untergrundes die Bazillen nicht verdecke. In Schnitten ist sie besonders schwierig, vielleicht die schwierigste von allen, und viel Zeit und Arbeit ist ihrer Ausführung schon gewidmet worden. Die Ursache davon liegt nach Unna in dem

*) Archiv de méd. exp. 1889. 460.; s. a. Silveira, Cr. 11. 348.

Umstand, dass das die Rotzbazillen enthaltende nekrotische Gewebe ungewöhnlich reich an Kernchromatin ist, das sich stärker färbt und die Farbe besser festhält, als die Rotzbazillen.

Für die färberische Darstellung in Deckglaspräparaten gab Löffler (K. A. 1. 171) diese Vorschrift:

Ausstriche, am besten aus jungen Lungenknötchen, werden 5 Minuten lang mit der alkalischen, starken Methylenblaulösung gefärbt, dann 1 Sekunde in 1%ige Essigsäure getaucht, der man durch Zusatz von Tropäolin 00 in wässriger Lösung eine etwa rheinweingelbe Färbung gegeben hat, und schnell mit destilliertem Wasser nachgewaschen.

Der Zusatz von Tropäolin 00 hat die auffallende Wirkung, dass das gefärbte Zellplasma ganz, die Kerne etwas entfärbt werden, die Bazillen aber ihre Farbe behalten. Die Präparate erhalten dadurch ein eigentümlich klares Aussehen.

Die Färbung von Schnitten hat Kühne mit besonderm Fleisse studiert und schliesslich eine Methode gefunden, die „nicht allein mit hoher Wahrscheinlichkeit sämtliche Bazillen unterscheidbar macht, sondern auch in ihrer Ausführung sehr leicht und sicher ist“ (F. 6. 860):

Auswässerung der Schnitte zur Befreiung vom Alkohol.
Färbung mit Karbolmethylenblau 3—4 Minuten.
Entfärbung in salzsauerm Wasser einige Sekunden.
Gründliche Abspülung in Wasser.
Befreiung vom Wasser durch Aufdrückung mehrfach geschichteter Lagen von Fliesspapier
Anilinöl, versetzt zu 20% mit Terpentinöl (der Schnitt bleibt dabei auf dem Deckglase) 8—10 Minuten.
Terpentinöl. Xylol. Balsam.

Histologische Einzelheiten kommen dadurch allerdings nicht zum Ausdrucke und man muss sich zu ihrer Erforschung andrer Verfahren bedienen. Doppelfärbungen lassen sich herstellen, wenn man die gefärbten Schnitte aus dem Xylol 3—5 Minuten in Terpentinöl bringt, dem auf ein Blockschälchen etwa 5 Tropfen Safranin- oder (besser) 2 Tropfen Auraminanilinöl zugesetzt sind.

Wie alle Methylenblaufärbungen, so ist auch diese, davon musste ich mich leider überzeugen, recht wenig haltbar. Ganz hübsch gefärbte Bazillen sind schon nach wenigen Monaten nicht mehr zu sehen, selbst wenn man für die Ausspülung der Salzsäurespuren, die immer fürs Präparat verderblich sind, grösste Sorge trägt.

Nicolle will mit seiner (S. 51) aufgeführten Tanninbehandlung befriedigende Ergebnisse erzielt haben.

Unna hebt als wichtigste Massnahme eine eigenartige Vorbereitung der Schnitte in Gestalt der Antrocknung zur bessern Differenzierung von Gewebe und Bakterien hervor (M. f. pr. D. 16. 109): Die ungefärbten Schnitte werden aus Alkohol auf Objektträger übertragen, mit Wasser bedeckt, mittels Löschpapier sogleich wieder abgetrocknet und an der Luft der weitern Eintrocknung überlassen, was in ½ Minute etwa vollendet ist.

Die Färbung geschieht auf dem Objektträger maximal mit Methylenblau, entweder mit basisch Blau (S. 33), oder mit der Kühne-

schen (S. 35) oder mit der zusammengesetzten Unnaschen Lösung (S. 301).

Bei der Entfärbung, die das Kernchromatin mehr betreffen soll, als die Bakterien, und wozu die Glyzerinäthermischung (von Schuchardt-Görlitz) oder eine 1%ige Arsensäure dient, wird der wieder gelockerte Schnitt meistens vom Objektträger heruntergespült und wie gewöhnlich weiter behandelt.

Die Aufhellung mit Ol. terebinth. rectificatiss. nach Kühne kommt nur bei den einfachen, nicht bei den Doppelfärbungen in Betracht.

Unna gab je zwei Verfahren für einfache und doppelte Färbung der Rotzbazillen in Schnitten an:

A. Einfache Färbungen.

I.

Antrocknen der Schnitte.
Methylenblau ½ Stunde.
Abspülung in Wasser, wobei der Schnitt gelöst wird.
Glyzerinäthermischung einige Sek.
Abspülung in Wasser.
Dieser Turnus nach der Färbung wird einige Male wiederholt.
Sorgfältige Abspülung in Wasser.
Absoluter Alkohol.
Terpentinöl. Balsam.

II.

Antrocknen.
Methylenblau ½ Stunde.
Abspülung in Wasser, wobei der Schnitt gelöst wird.
1%ige Arsensäure 5—10 Sek.
Abspülung in Wasser.
Absoluter Alkohol.
Terpentinöl. Balsam.

B. Doppelfärbungen.

III.

Säurefuchsin 1% eine Nacht.
Abspülung in Wasser.
Antrocknen.
Methylenblau ¼ Stunde.
Arsensäure (1%) 5—10 Sek.
Wasser.
Alkohol.
Bergamottöl.
Balsam.

IV.

Antrocknen.
Methylenblau 10 Min.
Wasserspülung.
Mischung von konzentrierter wässriger Tannin- und 1% Säurefuchsinlösung zu gleichen Teilen 15 Min.
Alkohol. Bergamottöl. Balsam.

Diese Schnellfärbung verdient an sich und durch ihre Brillanz den Vorzug für Rotzpräparate.

Die aus der Leiche des Versuchstieres anzulegenden Kulturen müssen mit der peinlichsten Exaktheit vorbereitet werden, wie ich S. 167 beschrieb. Zur Erzielung einer raschen Ernte eignet sich die Aussaat auf schräg erstarrtes Hammel- etc. Serum oder auf Glyzerinagar in Doppelschälchen, die mit dem Deckel nach unten in den Brutschrank kommen. Auf diesem Nährboden geht die Entwicklung rascher vor sich, wie auf Serum, freilich tritt auch der Verlust an Virulenz,

der bei den auf toten Nährboden gezüchteten Rotzbazillen immer statt hat, noch eher auf. Von den entstandnen gelblichen, etwas erhabnen Ansiedlungen versäume man nicht, Abimpfungen auf Kartoffeln zu machen, worauf bei Körperwärme ein erst gelblicher Ueberzug entsteht, der später in bezeichnender Weise rotbraun wird. Damit ist die Diagnose vervollständigt.

Gleichzeitig mit den Abimpfungen auf Kartoffeln sät man von der Platte weg in Bouillon ein, übergibt sie für 1—2 Tage dem Brutschrank und spritzt von der also gewonnenen Kultur einem Versuchstiere eine kleine Menge in die Bauchhöhle.

Noch erübrigt die Feststellung der Reihe von Tieren, die zu Rotzversuchen verwendet werden können, wenn Meerschweinchen nicht zu haben sind. Angesichts der Thatsache, dass sich die graue und weisse Hausmaus nicht empfänglich erwies, wohl aber die Feldmaus (arvicola arvalis), sowie die Wühlratte, Waldmaus oder Schermaus (arvic. amphibius), die nach Kitt (C. 2. 243) in 3—6 Tagen der Impfung erliegt, nahm man an, dass die Gattung Mus überhaupt immun sei, bis Kitt zeigte, dass sich die Wühl- oder Springmaus (Mus sylvatic.) rotzkrank machen lasse und dann in 8—33 Tagen sterbe.

Kranzfeld (C. 2. 276) benützte mit Erfolg das Ziesel (Spermophilus citillus s. guttatus). Dieser verhältnismässig zahme, an Grösse fast den Hamster erreichende Nager, der hauptsächlich im Osten Europas einheimisch ist, erliegt binnen 4—10 Tagen der Infektion. Bei mehrfach aufeinander folgender Uebertragung des Rotzbacillus auf Ziesel und dann auf Kaninchen beobachtete Gamaleia (Cr. 7. 642) eine Steigerung der Virulenz.

Als sehr empfänglich erweisen sich nach Lisicyn (Cr. 6. 396) die Katzen; sie sollen nach einer Inkubationszeit von nie mehr als 3 Tagen in spätestens 22 Tagen zu Grunde gehen. Auch Hunde, behauptet Balitzky (Cr. 6. 195) lassen sich zur Diagnose benützen, da sie ohne Unterschied des Geschlechts in jedem Alter der Infektion zugänglich seien; Strauss hält sie jedoch für wenig, d. h. nur bei Einverleibung grosser Mengen für empfänglich (vorherige Einspritzungen kleiner Mengen sollen Immunität erzeugen). Peuchu (Cr. 6. 172) gelang es, den Rotz durch direkte kutane Impfung von Schaf zu Schaf und vom Schafe auf den Esel zu übertragen.

Diphtheritische Hautgeschwüre habe ich nicht selten bei an Rachendiphtherie erkrankten Kindern beobachtet; sie traten vielfach an den Fingern auf, die von den kleinen Patienten zum Munde geführt zu werden pflegen, und wurden durch Kratzen auf die verschiedensten Körperstellen, namentlich den Eingang der Nase, des Afters, der Scheide u. s. w. übertragen. Ferner kann bei den durch den Luftröhrenschnitt gesetzten Wunden ein durch die Diphtheriebazillen bedingter Belag entstehen; Aerzte und Pfleger können sich durch irgendwelche Hautwunde bei solchen Kranken eine diphtheritische Ansteckung zuziehen, endlich aber — und dafür hat Brunner klinisch-bakteriologische Beweise (B. 93. 515) erbracht — werden Diphtheriebazillen in den Belagen von Wunden, ja selbst in wenig zur Heilung.

neigenden, phlegmonösen Infiltrationen gefunden, ohne dass die damit Behafteten nachweislich mit Diphtheriekranken oder deren Abscheidungen u. dgl. in Berührung gekommen sind.

Die Diagnose auf Diphtheriebazillen wird bei solchen Fällen in erster Linie durch die Aussaat der verdächtigen Absonderung oder der Belage auf die Oberfläche von Glyzerinagar gestellt, das am geeignetsten in Doppelschalen ausgegossen ist, die mit dem Deckel nach unten gekehrt in den Brutschrank gestellt werden. Das Verfahren ist genau dasselbe, wie bei der Untersuchung diphtherischer Membranen aus dem Rachen, von den Mandeln u. s. w. (S. 346).

Auch hier lässt sich beobachten, dass diphtherieähnliches Aussehen der Geschwüre u. s. w. durch andre Bakterien, als durch die Diphtheriebazillen, meist von Kettenkokken bedingt sein kann. Ich habe das ausser aus der Literatur an mir selbst erfahren müssen, als ich während der Zeit, da ich über Streptokokkeninfektion der Mäuse arbeitete, an der Kuppe des rechten vierten Fingers (vielleicht durch Nadelstich), ein Bläschen bekam, nach dessen Platzung ein erbsengrosses, rundes, bis 2 mm tiefes, streptokokkenhaltiges Geschwür zurückblieb, auf dessen Grund sich ein mechanisch kaum entfernbarer, fibrinöser Belag befand; es war zwar ohne weitere Komplikation, aber nur sehr langsam zur Heilung zu bringen. Brunner fand in diphtheritisch aussehenden Wundbelagen häufig Streptokokken, einmal auch den weissen Traubencoccus; in einem andern Fall schien das Bact. coli commune die Ursache gewesen zu sein.

Die phagedänische Wunddiphtheritis, d. i. der Hospitalbrand konnte mit den neuern Methoden nicht mehr untersucht werden. Brunners Ansicht zufolge dürfte sie nicht durch den Diphtheriebazillus bedingt sein.

Der **Rotlauf** des Menschen wird durch Kettenkokken hervorgerufen, und zwar von demselben Kleinwesen, das als Streptococcus pyogenes den Anlass zu Eiterungen an den verschiedensten Stellen des Körpers gibt, vom einfachen Hautabscess bis zur tödlich endigenden Bauchfellentzündung, und das auch der Erreger von Septikämien ohne jegliche Eiterung werden kann.

Man muss annehmen, dass dieser Unterschied in der Wirkung, abgesehen von der wechselnden Virulenz der Mikroorganismen und von der Widerstandsfähigkeit des jeweils befallnen Körpers, von den Verhältnissen am Orte der Ansiedlung der Bakterien bedingt ist. In den oberflächlichen Schichten der Haut kommt es unter ihrem Einfluss nicht zur Eiterbildung, wie im lockern Unterhautbindegewebe; und selbst hier ist die Eiterung nicht die notwendige Folge ihres Eindringens. Sehen wir doch einerseits bei Septikämie den ganzen Körper von Kettenkokken durchsetzt, ohne irgendwelche Eiterherde zu finden, und andrerseits beim Rotlauf ab und zu die Entstehung kleiner Abscesse in der Cutis und im Unterhautbindegewebe. Lymphgefäss- und Lymphknotenentzündungen sind keineswegs immer von Eiterungen begleitet oder gefolgt, obwohl sie durch die bekannten Eitererreger hervorgerufen werden (Fischer und Levy Cr. 14. 433). Es bietet auch nichts befremdendes, dass Jordan (Arch. f. Chir. 42. 325) bei zwei Fällen von Rot-

lauf nur den Staphylococcus pyogenes aureus fand: das beweist nur, wie eben Eitererreger überhaupt unter gewissen Bedingungen lediglich Entzündungserscheinungen ohne Eiterung hervorrufen können, eine Thatsache, die wir nicht bloss bei Septikämie, sondern selbst bei der Staphylokokkenpyämie wiederfinden, wo wir die Bakterien allenthalben im Körper antreffen, ohne dass darum überall Eiterung bestünde, obwohl dem Staphylococcus die Fähigkeit, Eiterung zu erregen, in höherm Masse eigen ist, als dem Streptococcus. Dasselbe klinische Bild, wie es sich beim Erysipel darstellt, kann überdies auch durch andre entzündungmachende Reize hervorgerufen werden, wie Buchner an seinem eignen Körper durch Einspritzung von sterilisierter Aufschwemmung der Friedländerschen Kapselbazillen bewies (B. 90. 218). In weitaus der Mehrzahl der Fälle aber wird der Rotlauf unter natürlichen Verhältnissen von den Streptokokken erzeugt.

Namen, wie Streptococcus erysipelatos, Str. pyogenes bedeuten heutzutage keine Art- oder Varietätenunterschiede mehr, sondern dienen bloss zur Kennzeichnung des Fundortes, so dass wir in ähnlicher Weise von einem Streptococcus empyematos (pyothorakos) oder puerperalis sprechen können. Da aber unter den Streptokokken Arten gefunden werden, die stets — auch in künstlichen Nährsubstraten, namentlich in Bouillon — kurze Kettchen bilden, im Gegensatz zu andern — und dazu gehören die krankheitserregenden —, wobei lange Ketten nie vermisst werden, so unterscheiden wir mit v. Lingelsheim (Z. 10. 331) zwischen Streptococcus brevis und longus. Dann haben wir einen Art bezeichnenden Ausdruck, dem die Bezeichnung der Herkunft überdies beigesetzt werden kann; so sprechen wir also besser von einem Streptococcus longus erysipelatos etc.

Im Körper des Menschen und der Versuchstiere treffen wir diese Kettenkokken, die die Anilinfarben gut annehmen und sie auch nach der Gramschen Behandlung behalten, nicht selten in nur ganz kurzen Verbänden, ja selbst bloss einzeln als Diplokokken (sie treten stets paarweise auf), so dass wir dann nicht imstande sind, sie im mikroskopischen Bilde von Staphylokokken zu unterscheiden, die uns ebenfalls oft nur als vereinzelte Diplokokken begegnen.

Die Aussaat auf künstliche Nährboden schafft da bald Klarheit.

Nährgelatine freilich eignet sich am wenigsten für ihre Züchtung, denn, wenn sie auch hier als runde, nicht verflüssigende, gelblichbraune, gekörnte Ansiedlungen bei schwacher Vergrösserung erkennbar sind, so geht doch die Entwicklung viel zu langsam vor sich. Die Streptokokken beanspruchen, wenn sie rasch wachsen und an Virulenz nicht wesentliche Einbusse erleiden sollen, höhere Wärmegrade, und darum brutbeständige Nährboden.

Zu ihrer Isolierung soll man deshalb immer Nähragar mit oder ohne Glyzerinzusatz (in Doppelschälchen) bei Körperwärme benützen. Dann finden sich schon nach weniger als 24 Stunden grauweisse, durchscheinende, schleierartige Kolonien, die sich bei 50—100facher Vergrösserung in ein zierliches, völlig farbloses und daher auf den ersten Blick nicht so leicht erkennbares Netzwerk zarter Schlingen und Maschen auflösen; meist bündelartig vereinigt, sieht man sie aber auch in bandartigen bis fadenförmigen, vielfach geschlängelten Strängen über die Agaroberfläche hinziehen. Bei genauem Zusehen ist an den ein-

zelnen Fäden die perlschnurartige Aneinanderreihung der kleinen Kokken bereits wahrzunehmen.

Das Photogramm Taf. I, Nr. 5, zeigt eine auf Glyzerinagar bei 36° binnen 24 Stunden gewachsne Kolonie in 100facher Vergrösserung, nebenbei bemerkt, ein schwieriges bakteriologisches Objekt für die mikrophotographische Aufnahme. Da man Platten gewöhnlich bei 50- bis 70facher Vergrösserung untersucht, so muss man auf die Kleinheit der Kolonien gefasst sein; ganz winzig sind sie oft auf Nähragar ohne Glyzerinzusatz, aber nicht immer, man bekommt auch darauf ganz hübsche Kolonien. Die Streptokokken sind so empfindlich, dass selbst geringfügige, nicht nachweisbare Aenderungen im Nährboden auffallende Verschiedenheiten in der Reichlichkeit ihres Gedeihens bedingen. Der beste Alkaleszenzgrad liegt meinen Untersuchungen zufolge bei 1—2 % Normalnatronlauge.

Photogramm Taf. I, Nr. 4 zeigt ein Klatschpräparat von einer solchen Agaransiedlung bei 920facher Vergrösserung; neben kürzern kommen längere, geschlängelte Ketten vor.

Von der Agarplatte aus lege man dann eine Reinkultur in Bouillon an. Man wird, wenn sie 1 Tag lang im Brutschrank war, über einem mehr oder weniger reichlichen Bodensatz die klare Nährlösung finden. Ist sie getrübt, so sind höchst wahrscheinlich Verunreinigungen hinein gelangt. Doch kommt es vor, dass auch allein von den langen Streptokokken eine nicht sehr dichte Trübung erzeugt wird, besonders nach reichlicher Einsaat und bei üppigem Wachstum, aber auch diese verliert sich und die Bouillon ist nach weitern 1—2mal 24 Stunden klar; immerhin denke man dabei zunächst an die Möglichkeit der Verunreinigung und unterlasse es, wenn es das Interesse erheischt, nicht, eine Plattenaussaat auf Agar zur Prüfung auf Reinheit zu machen.

Der Bodensatz ist gewöhnlich gleichmässig graugelblichweiss; enthielt das Aussaatmaterial nur spärlich Keime, so sieht man auch auf dem Grund eines Fläschchens (Medizinfläschchen von ca. 30 ccm Inhalt mit 7—10 ccm Bouillon eignen sich zu dieser Beobachtung besser, als Reagensröhrchen) isoliert stehende, kuppenförmige Ansiedlungen, die etwa mit dem Aussehen junger, erhabner Schimmelpilzkolonien zu vergleichen sind; nimmt man sie mit einer Pipette einzeln vorsichtig heraus und lässt sie auf dem Objektträger im Exsikkator antrocknen, so sieht man ein dichtes Gewirr langer Reihen von Kokkenketten. Photogr. Taf. I, Nr. 3 stammt von einem derartig gewonnenen Präparate. Manchmal hat der Bodensatz schleimig fadenziehendes Gepräge, manchmal ist er mehr hart und bröcklig; vorsichtig aufgeschüttelt trübt er dann die Bouillon nicht auf einmal, sondern seine Teilchen wirbeln schneeflockenartig in der Flüssigkeit. Kurth (K. A. 7. 389) hat das besonders bei von Scharlachfällen herrührenden Streptokokken bemerkt und sie unter dem Namen Streptococcus conglomeratus zusammengefasst.

Bei **Scharlach**, das möge hier eingefügt sein, sind schon vielfach Streptokokken gefunden worden, doch nicht so regelmässig, um sie als die Erreger der Krankheit ansprechen zu können (Raskin, Cr. 5. 286; 683 u. a.). Sie haben vielmehr die Bedeutung sekundärer Eindringlinge. Die Ursache dieser Krankheit liegt noch immer im

Dunkeln. Manche, wie Doehle (C. 12. 906), vermuten bei ihm, sowie bei Masern, Pocken, Syphilis Protozoen als Erreger.

Was nun die für Streptokokken empfänglichen Versuchstiere betrifft, so sind am meisten die weissen Mäuse geeignet; denn Kaninchen erkranken zwar mit örtlichen Erscheinungen nach Impfung in die Haut, was ja für die Analogie mit dem menschlichen Rotlauf von Wert ist, aber zu Studien über die Virulenz der Kokken sind sie weniger gut zu gebrauchen, da die Empfindlichkeit der einzelnen Tiere recht verschieden ist. Am ehesten erliegen sie der Allgemeininfektion nach Einspritzung von Kulturen in die Bauchhöhle, doch mitunter erst nach längerer Zeit unter Fieber, Abmagerung und Zeichen einer Streptokokkenvergiftung, so dass die Kokken in der Leiche gar nicht mehr nachweisbar sind; ältere Tiere sind weniger empfänglich, als junge. Meerschweinchen sind so gut wie unempfänglich, was uns beim Nachweise von Tuberkel-, Rotzbazillen u. a. im Auswurf, Nasensekret u. s. w. zustatten kommt. Mäuse dagegen werden von virulenten Streptokokken getötet, am sichersten nach Einspritzung in die Bauchhöhle, doch auch nach Impfung unter die Haut. v. Lingelsheim hat sie als direkten Masstab für die Virulenzbestimmung der Streptokokken benützt; er bezeichnete (Z. 12. 318)

mit Virulenz	I,	wenn	0,01—0,05	ccm der Bouillonkultur,
„ „	II,	„	0,05—0,15	„ „ „
„ „	III,	„	0,3	„ „ „

unter die Haut gespritzt genügten, um den Tod einer Maus in 3—4 Tagen herbeizuführen.

Ein derartiger Versuch beansprucht die gleichzeitige Verwendung einer grössern Anzahl von Tieren. Doch ist eine so scharfe Grenzbestimmung für gewöhnlich nicht notwendig. Haben wir einen Streptococcus aus der Haut oder aus einem andern Organ reingezüchtet, so soll nur bestimmt werden, ob er überhaupt für die Maus virulent ist, und das sollte jedesmal geschehen. Wir erhalten darüber Aufschluss, wenn wir 0,3—0,5 ccm der Bouillonkultur dem Tierchen in die Bauchhöhle spritzen. Nicht virulente Streptokokken werden dann ohne besondre Erscheinungen ertragen, im andern Falle aber erliegt die Maus der Streptokokkenkrankheit schon binnen 24 Stunden oder weniger Tage.

Als wichtigste Zeichen sind zu nennen: verklebte Augen, Schwellung der Drüsen, eitrige Bauchfellentzündung, starke Schwellung der Milz, die mitunter von einigen oder vielen gelben (koagulationsnekrotischen) Stellen besetzt ist, Vergrösserung der Leber, der Nieren und Streptokokkengehalt sämtlicher Organe. Eine ausführliche pathologisch-anatomische, gemeinsam mit mir vorgenommene Untersuchung über die Streptokokkeninfektion der Mäuse hat Singer in seiner Dissertation (Würzburg 1893) niedergelegt.

Dass die aus rotlaufkranker Haut gezüchteten langen Kettenkokken die Fähigkeit haben, dieselbe Krankheit beim Menschen zu erzeugen, ist durch Versuche erwiesen, die Fehleisen*), dem wir die Klarleg-

---

*) Die Aetiologie des Erysipels. Berlin bei Th. Fischer. 1883. S. 21.

ung der Ursache des Erysipels verdanken, und nach ihm andre Aerzte anstellten, um unter dem Einflusse der künstlich hervorgerufnen Erkrankung gutartige und bösartige Geschwülste zu heilen. Man kam jedoch von dieser Art der Therapie ab, weil man die Folgen nicht in der Hand hat. Es wurde dann später (Lassar, Spronck P. 6. 683) derselbe Zweck durch Einspritzung filtrierter, bakterienfrei gemachter Kulturen zu erreichen gesucht, jedoch liess sich, wenn auch eine Wirkung unverkennbar war, kein nennenswerter Erfolg erzielen.

Will man beim rotlaufkranken Menschen bakteriologische Untersuchungen anstellen, so ist zuvörderst eine Stelle auf der Haut zu suchen, wo die Abgrenzung der zungenförmig vorschreitenden Entzündung gegen das gesunde Gebiet sichtbar ist. Sie wird mit warmem Seifenwasser, soweit es die Schmerzhaftigkeit zulässt, mechanisch gereinigt, dann mit Alkohol abgespült, mit 1°/oo Sublimatlösung desinfiziert und diese durch Uebergiessung mit Alkohol, endlich mit Aether (keine Flamme in die Nähe bringen!) entfernt. Die gleichzeitig trocken gewordne Haut wird mit einer sterilisierten (geglühten und wieder erkalteten) Pinzette zu einer sehr kleinen Falte erhoben und mit einer scharfen Schere abgetragen (die Schere ist vorher, um durch Hitze die Schärfe nicht zu beeinträchtigen, mit Karbollösung und Watte tüchtig gescheuert und über der Flamme vorsichtig, ohne zu sehr zu erhitzen, von der Flüssigkeit befreit). Das Hautstückchen wird in einem sterilen Reagensglas in den Arbeitsraum verbracht und mit der untern Seite über die Oberfläche von Agar in ein bis drei sterilisierten Doppelschälchen ausgestrichen, die mit dem Deckel nach unten, bedeckt von einer Glasglocke, in den Brutschrank gestellt werden. Danach wird das Hautstückchen, um es nicht vernichten zu müssen, in Nährgelatine ausgequetscht und eingebettet auf eine Platte ausgegossen, oder zur Rollplatte verarbeitet. Am nächsten Tag wird man die Ernte auf Agar haben; man legt davon eine Reinkultur in Bouillon an und kann mit weitern Abstrichen von der Agaroberfläche eine weisse Maus unter die Haut impfen. Von der Bouillonreinkultur werden 1 Tag später 0,3 bis 0,5 ccm einer Maus in die Bauchhöhle gespritzt und, wenn sie stirbt, von ihr wieder Reinkulturen angelegt. Will man sich virulentes Material für die Dauer bewahren, so muss die Tierimpfung recht oft wiederholt werden.

Hat man Gelegenheit, einer Leichenöffnung eines an Rotlauf gestorbnen Menschen anzuwohnen oder sie selbst vorzunehmen, so ist es von Interesse zu erfahren, ob und inwieweit die Streptokokken in den Körper vorgedrungen sind; man macht deshalb Aussaaten von innern Organen (Blut, Herz, Lungen, Leber, Milz, Nieren, Gekrösdrüsen, Gehirn, Ausschwitzungen in Körperhöhlen) in Agarschalen und bewahrt sich Teile der Organe in Alkohol zur Anlegung von Schnitten auf. Bis jetzt wurde nur eine beschränkte Anzahl solcher genau untersuchter Fälle mit positivem Ergebnis beschrieben (Hartmann A. 7. 1: E. Pfuhl Z. 12. 517).

Beim Rotlauf entstehen gewöhnlich kleine oder ausgedehnte Blasen auf der Haut, die prall mit klarer, seröser Flüssigkeit gefüllt sind. So verlockend ihr Inhalt zur Gewinnung von Streptokokken des Ery-

sipels erscheinen mag, so ist doch von einer Untersuchung abzuraten. In der Regel findet man nämlich die nach genauer Reinigung und Desinfektion der Haut unter allen Vorsichtsmassregeln mit steriler Spritze ausgesaugte Flüssigkeit keimfrei; das hatte bereits Fehleisen erfahren müssen. Manchmal aber erhält man Streptokokken in Reinkultur oder mit andern Bakterien zusammen. Solche Streptokokken sind jedoch nicht einwandfrei als die Erreger des Rotlaufes anzusehen. Denn, wie Kurth hervorhob, finden sich derlei Kleinwesen auch (als sekundäre Eindringlinge) im Inhalte von Blasen, die mit dieser Krankheit nichts zu thun haben, so beim Pemphigus, selbst bei Brandblasen.

Beim Pemphigus scheinen die Kleinwesen mit der Zeit von der äussern Oberfläche durch die Haut zu dringen, worauf der gewöhnlich klare Inhalt sich trübt und gelblich wird. Frische Blasen wurden keimfrei befunden (Mosler, Uhthoff u. A. B. 93. 372).

In ähnlicher Weise durch Spritzensaugung, oder durch Kapillarröhrchen wird der flüssige Inhalt von allen an der Oberfläche des Körpers sitzenden **Blasen** entnommen. Sind aber nur **Bläschen** oder **Pusteln** mit wenig flüssigem oder mit zähem, dickem Inhalt u. dgl. vorhanden, so wird man nach vorgängiger Reinigung und, wenn angängig, Desinfektion der Haut einen Einstich oder kleinen Einschnitt mit sterilisiertem Skalpell machen; der austretende Inhalt wird, noch ehe er mit irgend einer Stelle der Umgebung in Berührung kommen kann, mit einem sterilen Platindraht oder einer kleinen Oese abgenommen und entweder sogleich zum Tierversuch verwendet oder erst auf Agarschälchen ausgestrichen, wenn solche nicht zur Hand, in einem sterilisierten Reagensglas aufbewahrt, am besten, wenn wenig, der Eintrocknung unterworfner Inhalt gewonnen werden konnte, in einem sterilen Reagensglase, das im untern Teil etwas steriles Wasser oder Bouillon hat, womit vorerst der Eiter nicht oder höchstens nur dann vermischt wird, wenn rasche Eintrocknung zu befürchten ist. Die zur mikroskopischen Untersuchung bestimmten Proben werden immer erst entnommen, nachdem das Kulturmaterial bereits gesichert ist. Bei dieser achte man auch auf etwa vorhandne Zelleinschlüsse, Protozoen u. dgl., da solche von L. Pfeiffer z. B. bei Gürtelrose, Pocken gesehen wurden.

Im Inhalte von **Pocken-** und **Impfpusteln** hat gegen Ende des Jahres 1893 Buttersack einen vielversprechenden mikroskopischen Fund gemacht, nachdem alle bisherigen Forschungen ein negatives Ergebnis zwar nicht in Bezug auf das Vorhandensein von Keimen überhaupt, aber immer hinsichtlich der Erkennung eines Kleinwesens gehabt hatten, das als Erreger der Krankheit angesehen werden durfte. Wenn Buttersack die Lymphe, angetrocknet an ein mit zwei Wachstropfen am Objektträger befestigtes Deckgläschen, ohne irgend welche Flüssigkeit unters Mikroskop brachte, somit als Einschlussmittel die Luft (mit dem Brechungsindex = 1) benützte, dann liess sich ein feines Netzwerk von gleichmässig breiten Fäden wahrnehmen, und ausserdem wurden blasse, teilweise in Ketten angeordnete, immer gleich kleine Körperchen sichtbar. Da die Fäden stets im Anfange der Pustelbildung, die kleinen Körperchen bei vorgeschrittnem Entwicklungsgange anzutreffen

waren, so schienen diese in der That im Verhältnisse von Sporen zu vegetativen Zellen zu stehen. Morphologische und chemische Eigentümlichkeiten, namentlich ihr ablehnendes Verhalten gegen Farbstoffaufnahme liessen die Gebilde ohne weiters von Fibrinfäden unterscheiden und erkennen, dass hier etwas besondres, früher nie gesehenes vorlag (D. 93. 1362; K. A. 9. 96).

Ueber frühere Pusteluntersuchungen bei Pocken s. a. Besser C. 13. 590. Ueber solche bei Herpes der Lippe F. Klemperer B. 93. 693; bei Pemphigus Almquist Z. 10. 253, Bleibtreu B. 93. 703; bei Impetigo contagiosa Kurth K. A. 8. 294.

Furunkel und Karbunkel.

Zur Untersuchung wähle man, wenn nicht besondre Zwecke es anders verlangen, noch nicht eröffnete Blutschwäre. Das Vorgehen deckt sich mit dem vorhin beschriebnen.

Die mikroskopische Untersuchung wird in gewöhnlicher Weise am Eiterausstriche nach Färbung mit basisch Blau, verdünntem Karbolfuchsin u. dgl. gemacht. Häufig sieht man dann Doppelkokken. Sie können entweder den Trauben- oder den Kettenkokken zugehören, denn die Verbände sind oft sehr klein. Doch wird man schon in einigen Gesichtsfeldern Häufchen oder Kettchen von Kokken finden, ausserdem schafft die Plattenkultur auf Agar binnen 24 Stunden, auf Gelatine binnen einigen Tagen den gewünschten Aufschluss.

Für die Färbung liegen von Unna besondre Angaben vor (M. f. pr. D. 13. 303). Ihnen zufolge nimmt man für alle aufgestrichnen Eiterpräparate am besten alkalischen Seifengeist; vorzügliche sog. Minimalfärbung für alle Arten kokkenhaltigen (einschliesslich Gonokokken-) Eiters gibt folgende Lösung:

Methylenblau	0,1
Spirit. saponat. Kalin.	0,2
Dest. Wasser	100,0.

Mit dem Plattenverfahren wird man weitaus am häufigsten die Staphylokokken in ihren verschiednen Farbenrassen, meist die gelben treffen, doch mitunter auch Streptokokken, selten Bac. pyocyaneus und Proteusarten.

Dass der Staphylococcus thatsächlich Furunkel erzeugt, ist durch einwandfreie Versuche am Menschen bewiesen, so von Garré, Bockhardt, Schimmelbusch, die teilweise sich selbst Einreibungen mit Reinkulturen machten. Die Einwandrung der Kokken findet längs der Haare, zwischen Schaft und Wurzel statt.

Karbunkel werden, wo Gelegenheit dazu gegeben (Rosshaarspinnereien, Pinsel-, Kammfabriken u. a. Gewerben), nicht selten vom Milzbrandbacillus veranlasst. Wenn auch der Mensch nicht hoch empfänglich ihm gegenüber ist, so kommen doch tödlich endigende Ansteckungen vor. Im Karbunkel sind die Milzbrandbazillen, das ist zu erwarten, mit mancherlei andern Bakterien vergesellschaftet. Da dies aber meist Kokken sind, so fallen die verhältnismässig grossen Milzbrandbazillen im gefärbten Ausstrichpräparate auf. Es ist bemerkenswert, dass sich im menschlichen Körper auffallend häufig Milzbrand-

stäbchen finden, die den Farbstoff nicht gut annehmen, während das im Tierkörper (z. B. der Maus) zwar auch vorkommt, aber vereinzelter und seltner.

Zur endgültigen Diagnose ist unter allen Umständen die Plattenaussaat auf Gelatine und Agar, sowie die Impfung einer grauen oder weissen Maus, wenn mans hat, eines Meerschweinchens, erforderlich.

Der Bacillus anthracis, im lebenden Zustand ein vollkommen unbewegliches, Sporen bildendes, mit abgerundeten Enden versehenes Stäbchen, wird durch den Einfluss der Erwärmung und der Färbung im ausgestrichnen Präparat in bezeichnender Weise verändert; die Enden der Stäbchen sind dann scharf und gerade abgeschnitten, ja wenn die gedachten Massnahmen bis zu einem gewissen, zufällig getroffnen Grade eingewirkt haben, sieht man das leicht angeschwollne Endstück mit einer schwachen Konkavität versehen; ebenfalls infolge der Präparation erscheinen manchmal helle Säume um die Bazillen, eine Gifthülle, wie manche meinten, thatsächlich aber nur gegenseitiges Zurückweichen der Bazillensubstanz und der umgebenden Flüssigkeit, oder aber eine Differenzierung des geschrumpften Zellinhaltes vom Protoplasma. Im Körper vom Menschen, wie von Tieren kommt der Bazillus niemals zur Sporenbildung, in künstlichen Nährboden, hängenden Tropfen, kann man sie bei Untersuchungen in Zwischenräumen von 6—12 Stunden sehr schön verfolgen.

Auf Platten bildet er ziemlich massige, glänzend weisse, unterm Mikroskop aber dunkle Kolonien, die, wenn sie oberflächlich liegen, in ein zierliches, je älter, desto dichteres Geflecht gewundner, zopfähnlicher Züge auswachsen (Photogr. Taf. II Nr. 8). Gelatine wird verflüssigt.

Meerschweinchen erliegen einer Hautimpfung mit virulenten Bazillen oder Sporen binnen 48, Mäuse binnen 20—30 Stunden; weniger geeignet sind Kaninchen für derartige Versuche, weil nicht alle gleich empfänglich sind. Deshalb mussten schon manche mühsame Versuche angezweifelt werden, so erst wieder die von Maximowitsch und Grigoriew, die mit Proben von menschlichem Milzbrand bei der Tierimpfung (Kaninchen) ein negatives Ergebnis erhielten (B. 93. 374).

Verwechselt kann der Milzbrandbacillus mit dem Bacillus des malignen Oedems werden, wenn dieser auch etwas schmächtiger aussieht, und nach der Färbung seine abgerundeten Enden behält (Photogr. Taf. II Nr. 12). Im ungefärbten Präparat zeigt er träge Eigenbewegung. Für Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen u. a. Tiere ist er pathogen, aber nur bei den kleinen Mäusen findet er sich im Blute, bei den andern Tieren höchstens an der Oberfläche, nicht im Innern der Organe, wenn sie bald nach dem Tode zur Sektion kommen. Manche Tierarten, z. B. Kaninchen lassen sich nur infizieren, wenn gleichzeitig andre Bakterien mit eingeimpft werden, sei es in Reinkultur, z. B. Bacillus prodigiosus, Proteus vulgaris (Roger J. 5. 165; Penzo J. 7. 169), sei es durch Verwendung von Erde, Hadernstaub u. dgl. Hauptsächlich wirkt er durch das von ihm erzeugte Gift. Der Bacillus des malignen Oedems, von Pasteur vibrion séptique genannt ist ein strenger Anaërobier. In Deutschland wurde er von Gaffky (K. M. 1. 87) zuerst beschrieben, von Koch photographiert und von Hesse rein gezüchtet (D. 85. 214). Er kommt in Gartenerde vor und

wird in erstickten Tieren gefunden (Ueberwanderung vom Darm in die sauerstofflosen Gewebe).

Auch der Mensch kann mit den Bazillen des malignen Oedems infiziert werden, wie es scheint aber muss der Körper erst seine Widerstandsfähigkeit bis zu einem gewissen Grade eingebüsst haben. Brieger und Ehrlich fanden sie als Erreger des Oedems bei Typhuskranken (B. 82. 663 und 89. 852) und Braatz fand sie bei einem Manne, der wegen einer Schwellung in der Submaxillargegend einen Esslöffel Rattenkots in Kamillenthee eingenommen hatte (J. 3. 120). Nach Nekam (Cr. 12. 160), der sie in der Lunge als Erreger einer Sekundärinfektion nach krupöser Pneumonie, einmal sogar ohne vorausgegangne anderweitige Erkrankung im Oedem der rechten Glutäalgegend antraf, sind von 52 in der Literatur beschriebnen Fällen 13 als unzweifelhaft erwiesen zu betrachten.

Die Thatsache, dass van Cott, wenn auch nicht in der Moschustinktur, so doch in den unverarbeiteten Moschusbeuteln durch Einspritzung von 2 ccm der mit sterilisiertem Wasser hergestellten Aufschwemmung ins Unterhautzellgewebe oder in die Bauchhöhle von Meerschweinchen die Oedembazillen nachwies (C. 9. 303), lässt die Einspritzung der Tinktur beim erkrankten Menschen als gefährlich erscheinen.

Abscesse können nur, wenn sie mit der Aussenwelt nicht in Verbindung stehen, ein eindeutiges Untersuchungsergebnis erwarten lassen. Vor der Entnahme der Proben, die mit wohl desinfiziertem Messer oder mit einer Spritze (s. u.) zu Tag gefördert werden, ist die Haut mit Seife, Wasser, Alkohol, Sublimat, Alkohol, Aether zu scheuern, zu desinfizieren und zu trocknen. Vom austretenden Inhalte wird sogleich mit einer Platinöse und zwar aus der Mitte der Flüssigkeit entnommen, bei grössern Mengen in sterilisierten Reagensgläsern oder Kölbchen aufgefangen. Vorsicht, dass keine Sublimatlösung u. dgl. mit hineinkommt!

Zunächst werden die für die Aussaaten bestimmten Proben in Sicherheit gebracht, um unmittelbar später auf Agarschälchen ausgestrichen oder in Gelatineplatten oder -Scheiben verteilt zu werden. Dann macht man die allenfalls beabsichtigten Tierimpfungen. Dazwischen oder nachher wird die mikroskopische Untersuchung angeschlossen.

Bei seinen Versuchen, den Weg der Staphylokokken von der Hornschichte durch die Follikel und durch Verletzungen der Stachelschichte bis in die Abscesse zu verfolgen, arbeitete Unna eine Reihe von Verfahren aus, die die färberische Unterscheidung der Bakterien in der Hornschichte oder in Keratinmassen gestatteten (B. 91. 773).

Die Schnitte werden zuerst mit einem Karminfarbstoffe (Pikrocochenille) vorgefärbt; die Färbung der Kokken wird durch 2 Minuten lange Behandlung mit Boraxmethylenblau (S. 291) erzielt.

Die Differenzierung erfolgt mit einer der drei Methoden: der Arsen-, der Eisen- oder der Seifenmethode, während das vierte, das Chromverfahren zwar die Darstellung der Bakterien in der Hornschichte nicht erlaubt, wohl aber die Kokken im Eiter sehr gut zu Gesicht bringt.

a) Die Arsenmethode: Die gefärbten und in Wasser abge-

spülten Schnitte kommen auf einige Sekunden in eine wässrige Lösung von Arsensäure, dann in Alkohol. Dieser Turnus wird allenfalls noch 1—3mal wiederholt, bis die Eiterherde nur noch schwach gefärbt sind. Bergamottöl. Balsam.

b) Die Eisenmethode: Eisensulfatlösung 10—30 Sekunden; Alkohol, 1—5 % Kaliumbioxalatlösung ½—2 Minuten. Alkohol. Oel. Balsam.

c) Die Seifenmethode; verschiedne Modifikationen; eine der einfachsten: Die Schnitte kommen in ein Schälchen mit Alkohol, dem man einige Tropfen Spir. saponat. kalin. (Hebra) zugesetzt hat; dann Alkohol, Oel, Balsam.

d) Die Chrommethode. Die rot und blau vorgefärbten Schnitte kommen für einige Sekunden in eine 1%ige Lösung von Kaliumbichromat, dann werden sie rasch in Alkohol abgespült und längere Zeit in Anilinöl bis zur genügenden Entfärbung der Eiterherde behandelt. Bergamottöl. Balsam.

Sehen wir zunächst von den kalten Abscessen ab, die ausnahmslos auch auf Tuberkelbazillen zu untersuchen sind, und denken wir nur an den richtigen, dicken, gelben Eiter*), so sehen wir, dass jedesmal Bakterien die Veranlassung sind. Zwar gibt es wohl bakterienfreie Eiterung durch chemische Mittel (Terpentinöl, Kadaverin u. s. w.) oder durch Bakterienproteïne (chemotaktische Wirkung nach Leber, Pfeffer, Buchner), aber sie ist immer künstlich erzeugt und kommt in der Wirklichkeit für die Entstehung der Abscesse und Eiterherde nicht in Betracht.

Sollte trotzdem in ein oder dem andern Falle der Eiter scheinbar frei von Kleinwesen gefunden werden, so lasse man sich dadurch nicht beirren. Entweder sind die Erreger bereits abgestorben, oder, was das gewöhnliche ist, sie sind mit unsern einfachern Hilfsmitteln nicht oder überhaupt noch nicht nachweisbar. Lässt sich doch die Anwesenheit des Tuberkelbacillus oft bloss durch die Ueberimpfung aufs Tier (Meerschweinchen) feststellen! Buboneneiter enthält auch ab und zu keine auffindbaren Keime; die Kultur schlägt fehl, weil die Erreger der venerischen Erkrankungen nicht oder nur unter bestimmten Bedingungen züchtbar sind. Vielleicht gelingt späterhin der mikroskopische Fund von Streptobazillen im Eiterherd nach weichem Schanker.

Die Zahl der bis jetzt im Eiter angetroffnen Bakterien ist nicht klein. Die eigentlichen pyogenen Bakterien sind der Gelatine verflüssigende Traubencoccus in seinen verschiednen Farbrassen, demnächst der Kettencoccus. Seltner fand man einen die Gelatine

---

*) Als chemisches, differentialdiagnostisches Hilfsmittel zur Feststellung der tuberkulösen Natur von Eiterungen empfahlen Debraye und Legrain, einige Tropfen des Eiters in 2—3 ccm dest. Wassers aufzulösen unter Zusatz von etwas Natriumkarbonat oder Kalilauge und etlicher Tropfen Kupfersulfatlösung. Entsteht die charakteristische Rosafärbung der Peptone, so ist der Eiter nicht tuberkulös; reiner tuberkulöser Eiter zeigt die Violettfärbung der Albuminate. Die Probe lässt aber im Stich, wenn der Eiter teils von Tuberkelbazillen, teils von Eiterkokken herrührt. Dann erhält man ebenfalls eine Rotfärbung (r. M. f. pr. D. 16. 593).

nicht verflüssigenden Traubencoccus, einen wachsweissen und -gelben, sowie einen stinkenden Eiterbacillus. Eitererregende Wirkung kommt aber auch andern Bakterien zu, so dem Gonococcus, den Kapselbakterien der Lungenentzündung, dem Tetragonus, den Typhus- und Kolonbazillen u. s. w.*). Die Proteusarten Hausers finden sich fast regelmässig bei Verjauchungen, namentlich an bösartigen Geschwülsten (Krebs). Die Ursache der blaugrünen Färbung des Eiters ist der Bac. pyocyaneus, der sich für Mensch wie Tier krankmachend erwies.

Der Staphylococcus pyogenes aureus, von Becker, Ogston gesehen und von F. J. Rosenbach reingezüchtet, bildet kleine Kügelchen, die an Grösse und Farbstoffaufnahmefähigkeit nicht vollkommen gleich, in zusammenhängenden, wenn sie weniger dicht stehen, an Trauben erinnernden Häufchen sich entwickeln und daher ihren Namen Traubenkokken haben. Auf Gelatine bilden sie runde Kolonien und verleihen der Stichkultur durch ihr Verflüssigungsvermögen ein strumpfartiges Aussehen. Auf dem Grunde der kleisterartig riechenden Flüssigkeit liegt eine gelbe krümlige Masse und auf der Oberfläche schwimmt ein kleines gelbes Häutchen. Die goldgelbe Farbe tritt aber oft erst beträchtlich später, als das Wachstum selbst zu Tage. Auf Agar bei Brutschrankwärme ist sie bei der üppigern Entwicklung meist schon nach 24 Stunden ausgebildet. Die gelben, schleimigen, kleisterartig riechenden Ansiedlungen auf der Agarplatte sind, wenn die Schicht gehörig trocken war, einzeln rund, im Innern dicker, höher, stärker gelb und fliessen gerne zusammen. Die schleimige Beschaffenheit der Kulturen findet auch im gefärbten Präparat ihren Ausdruck insofern, als man zwischen den die Trauben bildenden Kokken oft eine die Farbe schwach annehmende Schichte findet, wie es im Photogramm Taf. I Nr. 1 zu sehen ist.

Mit dem Tierversuch kann man beim Staph. pyog. aur. wenig herausbringen. Mäuse leiden selbst nach Einspritzung grösserer Mengen in die Bauchhöhle wenig und erholen sich bald, Kaninchen bieten ein wechselndes Bild und erliegen der intravenösen Einspritzung unter Bildung verstreuter Eiterherde im Körper.

Die Kultur schafft viel rascheren und sichreren Aufschluss, als der Tierversuch. Immerhin halte ich folgende Beobachtung, die ich machte, für interessant: Von einem ausgedehnten Abscesse am Oberschenkel, dem bald Eitervergiftung und Tod folgte, hatte ich drei Mäusen jeder ½ ccm entweder in die Bauchhöhle oder unter die Rückenhaut gespritzt, ohne dass sie besondre Krankheitserscheinungen (gesträubtes Fell für einige Tage) zeigten. Die Kultur hatte unterdessen dargethan, dass im Eiter der gelbe Traubencoccus in Reinkultur vorhanden war. 22, 23 und 24 Tage später starben ohne erfindliche Ursache die drei Mäuse, ohne dass in ihrem Körper Bakterien nachweisbar waren. Diese Beobachtung zeigt, dass man ziemlich grosse Mengen Staphylokokkeneiters den Mäusen in die Bauchhöhle spritzen kann, ohne dass sie binnen kürzerer Zeit sterben, was für Untersuchungen mit streptokokken-, pneumokokkenhaltigem Eiter nicht ohne Interesse

*) S. a. Levy, über die Mikroorganismen der Eiterung. Arch. für exper. Pathol. und Pharm. 29. 135.

ist; sie weist aber andrerseits darauf hin, dass der fragliche Eiter giftige Eigenschaften besitzen muss, die bis jetzt nach dieser Richtung hin (Wirkung auf Mäuse) nicht bekannt waren.

Der Staphylococcus citreus wird nicht immer als solcher streng vom aureus unterschieden, da es Geschmacksache ist, ob man die Farbenabstufung zum Gold- oder Zitronengelben rechnet. Dagegen ist dies beim Staph. pyog. albus der Fall, der seltner als der aureus, aber kaum weniger virulent ist und mit Ausnahme der Farbstoffbildung ihm gleicht. Passet gewann auch Gelatine nicht verflüssigende Staphylokokken aus Eiter, den Staph. cereus albus und flavus. Besondre Bedeutung kommt ihnen nicht zu.

Wohl aber dem Streptococcus longus, der sowohl allein, als auch mit andern Krankheitserregern zusammen im Körper oft äusserst verderbliche Wirkung entfaltet und als sekundärer Einwandrer die übeln Zufälle und Ausgänge der Tuberkulose, Diphtherie, des Scharlachs und andrer Krankheiten bedingt, somit eins der verbreitetsten und gefürchtetsten pathogenen Kleinwesen ist. Ueber sein Verhalten gilt das beim Rotlauf Gesagte, über die Unterscheidung vom lanzettförmigen Kapselcoccus s. S. 324. Auch dieser wurde öfters im Eiter gefunden, er ist nicht bloss Erreger der Lungenentzündung, sondern kann sich auch an andern Stellen des Körpers ansiedeln und schwere Krankheitserscheinungen bedingen.

Der Bacillus pyogenes foetidus (Passet) ist ein im Eiter weniger häufiges Kurzstäbchen, ebenfalls von geringerer Bedeutung, das auf festen Nährboden, nicht aber in Milch, fauligen Gestank erzeugen soll.

Der Micrococcus tetragonus, von Koch gesehen, von Gaffky aus Lungenkaverneneiter rein gezüchtet, wurde ab und zu auch sonst im Eiter gefunden. Er ist ein kapseltragender Vierercoccus; die Kapsel ist bloss im parasitischen Zustande vorhanden (Photogr. Taf. I Nr. 7); von Versuchstieren sind nur weisse Mäuse empfänglich. In der Kultur fehlen die Kapseln fast immer. Sehr hübsch sind Ansiedlungen auf Agar; die makroskopisch weisse, unterm Mikroskop aber schwarzgraue Kolonie auf der Agarplatte ist in der Mitte dicker und löst sich am Rande in lauter isolierte viereckige Täfelchen, zierlich angeordnet, auf, bei denen man nur nicht recht weiss, warum sie eigentlich so getrennt geblieben und wie sie an den Ort, wo sie liegen, hingekommen sind; es muss zwischen den kleinen Abteilungen, die für sich an das Aussehen des einzelnen Tetradencoccus erinnern, entweder eine nicht nachweisbare Hülle oder eine Zone unfruchtbar gewordner Gelatine liegen (Photogr. Taf. I Nr. 6).

Von den sonstigen, vorhin genannten Kleinwesen sind hier nur noch die Proteusarten Hausers*) zu nennen, die übrigen finden an andern Stellen Berücksichtigung. Wo stinkende Fäulnis vorhanden, trifft man die giftigen Proteusarten an, so genannt von dem wechselnden Aussehen, das diese schlanken, geisselreichen und deshalb rasch sich bewegenden Kurzstäbchen sowohl in den Einzelindividuen, wie in den Kolonieverbänden aufweisen. Besonders interessant ist ihr von Hauser

---

*) Ueber Fäulnisbakterien und deren Beziehungen zur Septikämie. Leipzig bei F. C. W. Vogel. 1885.

sehr schön beschriebnes und bewiesnes Vermögen der Ausschwärmung; von einer Einzelansiedlung aus kann ein grosser Gelatinebezirk überwuchert werden, ohne dass ein Zusammenhang zwischen den zahlreich gewordnen korkzieher-, zopfartigen und schlingenförmigen Ansiedlungen noch zu sehen wäre. Hauser trennte drei Arten, einen Proteus vulgaris und mirabilis, die Gelatine stets, und einen Proteus Zenkeri, der Gelatine nicht verflüssigt. Proteusarten zeigen oft die auffallende, bei andern Bakterien nicht beobachtete Thatsache, dass Gelatine von Angehörigen derselben Reinkultur bald verflüssigt wird, bald nicht, eine Erkenntnis, die sich nur durch ganz einwandfreie und mühevolle Beobachtungen gewinnen liess. Das hat Jäger (Z. 12. 525) in unzweifelhafter Weise bei dem von ihm mit dem Namen Bacillus proteus fluorescens belegten Bakterium nachgewiesen, das er als den Erreger des Weilschen infektiösen Ikterus beim Menschen entdeckte.

Der von F. J. Rosenbach*) wiederholt gefundne Mikrococcus tenuis scheint dem damals noch nicht bekannt gewesnen lanzettförmige Pneumoniecoccus gleich zu sein.

E. Fraenkel züchtete bei Zellgewebentzündungen, die mit Gasentwicklung (Phlegmone emphysematosa) einhergingen, neben den bekannten Eitererregern einen anaëroben Bacillus, der dem des Rauschbrandes und malignen Oedems ähnlich, aber doch von ihnen verschieden war. Der unbewegliche Bacillus trat bisweilen in Form gegliederter Fäden — etwas plumper wie der Milzbrandbacillus — auf, behielt die Färbung nach Gramscher Behandlung und rief, Meerschweinchen unter die Haut gespritzt, Entzündung mit Gasbildung und Gewebsnekrose, ähnlich wie beim Menschen hervor. Ohne Eiterbildung wurde einmal bei einem tödlich endigenden Cholerafall eine Infektion mit diesem Gasbildner beobachtet; wie der Bacillus des malignen Oedems scheint auch er nur den von andern Bakterien bereits befallnen und geschwächten Organismus anzugreifen (C. 13. 13. r. 14. 622).

Eine Gasphlegmone unter Mitbeteiligung einer gasbildenden Varietät des Bacterium coli commune beschrieb v. Dungern (M. 93. 747).

In derartigen Fällen ist die Schalenkultur unter Wasserstoff auf Nähragar (ohne Glyzerin) mit Zusatz von 0,5%igem ameisensaurem Natron anzulegen. Die erhaltnen Reinkulturen werden nach einem der S. 200 angegebnen Verfahren fortgezüchtet.

Eiter- und Flüssigkeitsansammlungen in Körperhöhlen.

Eiterungs- und Entzündungsvorgänge am **Gehirn** und **Rückenmark** lassen sich in gewissen Fällen mit Wahrscheinlichkeit aus einem Bakterienbefund in andern Organen diagnostizieren, häufiger und leichter,

*) Mikroorganismen bei den Wundinfektionskrankheiten des Menschen. Wiesbaden bei J. F. Bergmann. 1884.

wenn Ohren- und Naseneiterungen bestehen, seltner und unsichrer, je weiter vom Gehirn entfernt die Organe liegen. Immerhin kann ein Tuberkelbazillenfund im Auswurf die zweifelhafte Diagnose auf Miliartuberkulose fallen lassen, oder die Auffindung irgend einer Bakterienart im Blute die Möglichkeit einer durch sie veranlassten Gehirnentzündung nahelegen, wenn sonstige Zeichen dafür bestehen. Beispielsweise entschied sich Bozzolo in einem diagnostisch dunkeln Falle für die Annahme einer Cerebrospinalmeningitis, als er in dem durch die Leberpunktion erhaltnen Blute Pneumoniekokken nachwies, während gewisse Erscheinungen vom Zentralnervensystem vorhanden waren, eine Pneumonie aber fehlte. Die Diagnose wurde durch die spätere Leichenöffnung bestätigt (Cr. 5. 774).

Im übrigen lassen sich bakteriologische Diagnosen über Erkrankungen des Gehirns und Rückenmarks bei der Unzugänglichkeit der Organe unter gewöhnlichen Verhältnissen nur nach Eröffnung der knöchernen Höhle stellen, die, von gewissen Operationen abgesehen, erst bei der Leiche gemacht werden kann. In dem Augenblick, als das Schädeldach abgezogen ist, überzeugt man sich von dem etwaigen Sitze eines Herdes, ohne das Organ irgendwie zu berühren, und entnimmt dann mit sterilisierten Instrumenten von den krankhaft veränderten Hirnhäuten oder von einer etwaigen eitrigen Auflagerung u. dgl. unter denselben Vorsichtsmassregeln, wie sie schon früher beschrieben, Material zur Aussaat, zur mikroskopischen Durchmusterung und zum Tierversuch.

In keinem Falle von Hirnhautentzündung soll man es versäumen, die Nebenhöhlen der Nase und das Gehörorgan zu untersuchen, um eine etwaige Beweiskette für das Zustandekommen der Affektion richtig schliessen zu können.

Andrerseits soll man auch Bakterien, die man bei Gehirnentzündungen gefunden und isoliert hat und auf ihre krankheitserregenden Eigenschaften prüfen will, den Tieren (Kaninchen, Meerschweinchen) in die Schleimhaut der Nase einimpfen, um zu erkennen, ob darauf eine Gehirnerkrankung folgt.

Die bei Eiterungsvorgängen am Gehirn und Rückenmark, besonders bei der Cerebrospinalmeningitis gefundnen Bakterien waren durchaus nicht immer dieselben.

Am öftesten, etwa in 60—70 % der Fälle hat man die A. Fränkel-Weichselbaumschen, lanzettförmigen Kapselkokken, dieselben, wie bei der Lungenentzündung nachgewiesen (Netter, Cr. 6. 549).

Ausserdem traf man Kapselkokken, die weitgehende Aehnlichkeit mit ihnen zeigten und doch wieder von ihnen verschieden waren. So fand Banti (Cr. 7. 30) eine Art von Kapselkokken, die sich durch raschen Verlust der Virulenz auch beim Tierversuch auszeichneten. und Bonome (8. 172; 703) traf in 6 Fällen einer kleinen Epidemie in der Leiche stets einen kapseltragenden Diplostreptococcus an, der bei Mäusen keine Septikämie erzeugte; bei den Mäusen fanden sich ebenso, wie bei Meerschweinchen und Hunden, gelatinöse, an langen Ketten reiche Ausschwitzungen. Auf Gelatine und Blutserum (?) soll der Coccus nicht züchtbar sein, auf Agarplatten aber knäuelförmige Ansiedlungen bilden.

Foàs „Meningococcus" machte bei Kaninchen niemals Oedem

der Haut an der Infektionsstelle, dagegen einen harten fibrinösen Milztumor, Wirkungen, die dem Pneumoniecoccus erst zukommen sollen, wenn man ihn unter anaëroben Bedingungen gezüchtet hat (D. 89. 991).

Auch der Friedländersche Kapselbacillus oder ein ihm ähnlicher wurde angetroffen (Netter; Mills, Cr. 12. 440).

In etwa 13 % der Fälle fanden sich Streptokokken. Dass die Streptokokkeninfektion des Gehirns von einer Mandelentzündung, wie das bei Brustfellentzündungen nicht selten beobachtet wird, ihren Ausgang nehmen kann, dafür spricht der von M. Beck (Z. 15. 359) mitgeteilte Fall von Hirnhautentzündung, bei dem in der eitrigen Ausschwitzung dieselben hochvirulenten Kettenkokken vorhanden waren, wie in dem vorhandnen Abscesse der linken Mandel.

Von andern Eitererregern wurden bei Meningitis nachgewiesen: Staphylococcus aureus, albus und citreus, namentlich im Anschluss an Ohreneiterungen (z. B. von Kirchner, B. 93. 542), selbst der Bacillus pyogenes foetidus (Mircoli, Cr. 12. 918), sowie ein ihm ähnlicher, aber die Gelatine nicht verflüssigender Bacillus, der Kaninchen in die Ohrvene eingespritzt, eitrige Entzündung vieler Gelenke hervorrief (Lanz, C. 14. 269).

Mitteilungen über Befunde von typhusähnlichen Bakterien, wie sie Neumann und Schaeffer (V. 109. 477), Roux (Cr. 5. 736), Adenot (Cr. 6. 679) machten, legen die Wahrscheinlichkeit einer Infektion mit Bacterium coli commune nahe, das früher in seiner krankheitserregenden Eigenschaft noch nicht so bekannt war.

Bewegliche, nach Gramscher Behandlung die Farbe verlierende Stäbchen, pathogen für Kaninchen, erhielt Centanni (H. 3. 964) in 2 Fällen von Meningitis, ähnliche, aber wie es scheint, an Gestalt kleinere, Rasori bei einem Falle von akutem Delirium (C. 14. 509).

Weichselbaum (F. 5. 583), später Goldschmidt (C. 2. 649) sahen bei 6 und 2 Fällen von Cerebrospinalmeningitis einen besondern Diplococcus, der wegen seines ausschliesslichen Vorkommens innerhalb der Zellen den Namen Diplococcus intracellularis meningitidis erhielt. In Schnitten, sagt Weichselbaum, lässt er sich schwer darstellen, künstlich gezüchtet, verliert er bald seine Ueberimpfbarkeit, Mäuse tötet er nur bei Einspritzung in die grossen Körperhöhlen. Bei den übrigen Tierversuchen ergab sich nichts bezeichnendes; Einspritzungen von Kulturaufschwemmungen in die Schädelhöhle (nach Trepanation) erzeugte bei Kaninchen und Hunden meistens Entzündung oder Eiterung.

Eitrige oder seröse Ausschwitzungen in die **Brusthöhle** sollen, wo nur immer angängig, bakteriologisch untersucht werden; die dadurch erhaltnen Aufschlüsse geben gewichtige Anhaltepunkte für die Diagnose, für die Vorhersage und für die Behandlung. Wenn auch die Art der Ausführung der Punktion und die dabei nötigen Vorsichtsmassregeln der Aseptik bekannt sind, so halte ich doch einige Fingerzeige nicht für überflüssig.

Zunächst werde man sich ganz genau über den Punkt klar, wo der Einstich erfolgen soll; sei es wo immer, stets ist am obern Rande einer Rippe einzustechen. Nach Reinigung und Desinfektion der Haut darf die zukünftige Einstichstelle nicht mehr mit dem Finger

berührt werden! Eine Regel, die leider durchaus nicht immer befolgt wird.

Die Haut des Operationsfeldes wird gründlich mit Seifenwasser gereinigt, dann mit Alkohol begossen (ein Eiterbecken und Tücher schützen die Umgebung vor Benässung) und mit in 1%ige Sublimatlösung getauchter Sublimatwatte abgerieben; dann wird nochmal Alkohol und schliesslich Aether direkt aus der Flasche aufgegossen. Augenblicklich ist die Haut trocken; sie wird dann etwas zur Seite gezogen, die in geeigneter Weise bereit gehaltene Kanüle wird eingestochen und nach Füllung der Spritze herausgezogen, die Einstichstelle mit etwas Kollodium verklebt und der Spritzeninhalt in der unten angegebnen Weise weiter verarbeitet.

Zunächst noch einige Worte über die Spritze. Oft muss man sich mit der gewöhnlichen Pravazschen behelfen. Da sie wegen des Stempels und der Lackverbindung zwischen Glas und Metall nicht nach bakteriologischen Grundsätzen im Sieden sterilisiert werden kann, so muss man sich bescheiden und sie 12—24 Stunden gefüllt in Karbollösung liegen lassen; kurz vor Gebrauch wird sie mit sterilisiertem (frisch gekochtem und etwas abgekühltem) Wasser durchgespült und die Kanüle aufgesetzt.

Die Kanüle wird in jedem Falle durch Kochen sterilisiert; man nimmt ein Reagensglas, füllt es zu 1/4 mit 1%iger Sodalösung, legt die Kanüle mit der Spitze nach unten ein (es kann zu ihrem Schutze etwas Watte am Boden sein) und kocht etwa 1/2 Minute über der Spiritusflamme. Das Reagensglas wird, um die Finger nicht zu verbrennen, mit einem Papierstreifen oder mit einem Halter gefasst. Nach dem Kochen neigt man das Reagensglas, damit die Sodalösung ausfliessen kann, erwärmt eine Pinzette an ihren Spitzen, fasst damit die Kanüle und setzt sie alsbald auf die Spritze. Sollte die Kanüle mit den Fingern in Berührung kommen oder gar entfallen, so kocht man sie nochmal aus, was keine Mühe macht und im Krankenzimmer geschehen kann.

Noch besser ist es, man bringt eine sterilisierte Spritze und zwar am einfachsten eine Stroscheinsche nebst einigen Kanülen mit ans Krankenbett*); jeder einzelne Gegenstand befindet sich in einem sterilisierten, mit Watte verschlossnen Reagensglase, und wird mit einer ebenso verpackten oder frisch geglühten Pinzette herausgenommen.

Selbstverständlich müssen die Hände des Operateurs nach den Regeln der Anti- und Aseptik desinfiziert sein.

Nehmen wir fürs erste ein seröses Exsudat an. Dies wird im Laboratorium folgendermassen verarbeitet:

0,7 ccm

bekommt ein Meerschweinchen in die Bauchhöhle mit derselben Spritze.

0,2 ccm

bekommt eine weisse Maus in die Bauchhöhle mit derselben Spritze.

---

*) Krönig hat für solche Zwecke eine Pipette angegeben, auf die vorne die Kanüle passt, während hinten eine Ausbuchtung zur Aufnahme eines Wattestopfens in ein zapfenförmiges Schlussstück endigt, über das ein Gummischlauch mit Mundstück gezogen wird. Es wird mit dem Munde gesaugt (D. 83. 1082).

Vom Reste wird ein Tröpfchen auf eine Glyzerinagarplatte ausgestrichen, das übrige zu Ausstrichpräparaten verwendet, wobei die Untersuchung auf Tuberkelbazillen ausgedehnt werden muss.

Alle Proben müssen rasch verteilt werden, weil die seröse Flüssigkeit nach kurzer Zeit zu gerinnen anfängt.

Bei jedem serösen pleuritischen Exsudat ist mit allergrösster Wahrscheinlichkeit der Tuberkelbacillus als Erreger anzunehmen. Sehr oft findet man zwar bei der mikroskopischen Untersuchung des Ausstrichpräparates nichts. Kommen aber verfeinerte Methoden, wie die Homogenisierung und Sedimentierung zur Anwendung, so gelangt man öfters schon zum Ziele, ehe der Tierversuch entscheidet, der die sicherste Auskunft gibt (s. auch Gelenktuberkulose S. 328).

Dass thatsächlich manchmal sehr wenig Tuberkelbazillen in einem solchen Exsudate sind, konnte ich aus dem Befund an einem Meerschweinchen schliessen, dem ich 1 ccm einverleibt hatte. Als das Tier nach Ablauf von 6 Wochen getötet wurde, konnte ich lediglich fünf verkäste Gekrösdrüsen sehen, worin sich die Tuberkelbazillen nachweisen liessen, alle übrigen Organe waren frei. Meerschweinchen, die in verseuchten, mangelhaft gehaltnen Ställen sich befunden haben, können an spontaner Einatmungstuberkulose erkrankt sein. Davor ist man selbst bei frisch angekauften Tieren nicht sicher. Wenn man die Impfung in die Bauchhöhle macht und das Tier nach 40, längstens 60 Tagen tötet, ist man imstande, die Impftuberkulose noch als solche zu erkennen, trotz einer etwaigen spontanen Erkrankung. Hören wir, was Cornet auf Grund seiner grossen Erfahrungen über diesen Punkt sagt (Z. 5. 203):

Eine im Stall acquirierte Tuberkulose, die erfahrungsgemäss fast ausnahmslos von der Lunge ausgeht, lässt sich von einer durch intraperitoneale Infektion erzeugten Tuberkulose nach 40—50 Tagen noch mit absoluter Sicherheit unterscheiden. Bei ersterer sind die Lungen der Hauptsitz der Veränderung, sie zeigen einen oder ein paar grosse, käsige, manchmal in Kavernenbildung begriffne Herde (wohl die primären Ablagerungsstellen des inhalierten Virus), ausserdem kommen ab und zu noch eine Anzahl kleiner sekundärer Knötchen vor, die Bronchialdrüsen sind bedeutend vergrössert, verkäst und nach dieser Zeit meist schon zentral erweicht, hingegen sind die Unterleibsorgane noch vollkommen normal, höchstens zeigen sich ein paar kleine Knötchen in der vielleicht etwas vergrösserten Milz, das Netz jedoch und das Peritoneum sind jedenfalls vollkommen frei von Tuberkeln.

Ganz anders ist das Bild bei intraperitonealer Infektion. Hier finden wir vor allem mehrere, bis erbsen- und bohnengrosse, verkäste oder erweichte Knötchen im grossen Netz, das bei reichlicher Einführung von Infektionsmaterial sogar eine dicke, wurstförmige Beschaffenheit angenommen hat, jedoch die einzelnen Knoten noch deutlich erkennen lässt. Die Milz ist mehr oder minder — oft bis ins 6—8fache — vergrössert, mit graugelben Knötchen oder mit weissgrauen, nekrotischen Herden durchsetzt. Die Leber, gleichfalls vergrössert, dunkelrotbraun oder graubraungelb, zeigt eine Anzahl kleiner gelber Herdchen. Am Leberhilus ist eine vergrösserte, meist verkäste oder erweichte Drüse, am Peritoneum sind vereinzelte miliare oder erbsengrosse, verkäste Knötchen vorhanden; hingegen sind die Lungen in dieser Zeit (40—50 Tage nach der Infektion) noch vollkommen frei oder sie haben nur vereinzelte ganz kleine graue Knötchen. Die Bronchialdrüsen sind normal oder unwesentlich vergrössert und erst in beginnender Verkäsung.

Der Unterschied zwischen beiden Befunden ist so unverkennbar und so zuverlässig, dass sich aus dem pathologisch anatomischen Zustande der Organe stets die Art der Infektion erkennen lässt, eine Thatsache, auf die übrigens schon Koch aufmerksam gemacht hat. Wartet man mit der Tötung der Thiere länger, etwa 60—90 Tage, so verwischt sich, wenigstens in manchen Fällen, diese Differenz allmählich, indem dann alle Organe aufs hochgradigste tuberkulös verändert sind.

Stehen Meerschweinchen nicht zur Verfügung, so lassen sich auch die freilich nicht durchweg empfänglichen Kaninchen verwenden, wenn keine septischen Bakterien im Ausgangsmaterial vorhanden waren. Hier

kann statt der Einspritzung in die Bauchhöhle die Impfung in die vordre Augenkammer gemacht werden, wobei freilich weniger von der Ausschwitzung zur Untersuchung gelangt.

Etwa im Exsudat ausserdem vorhandne Kettenkokken oder andre Bakterien werden durch die Impfung auf die Maus, andre Keime, Staphylokokken z. B. durch das Plattenverfahren dem Nachweise gesichert. Glyzerinagarplatten setzt man, wenn in den ersten Tagen nichts angeht, in eine feuchte Kammer und belässt sie noch einige Wochen im Brutschrank; vielleicht entwickeln sich Ansiedlungen von Tuberkelbazillen.

War das durch die Punktion gewonnene Exsudat ein eitriges, so wird man in erster Linie Ketten- oder Kapselkokken, ferner Traubenkokken oder andre erwarten können. Die Hauptsache ist hier die Uebertragung auf Mäuse und die Kultur auf Agarplatten. Ist jedoch der leiseste Verdacht auf Tuberkulose vorhanden, so darf die Impfung eines Meerschweinchens nicht unterlassen werden. Entweder verfährt man also ganz nach der oben angegebnen Weise oder man benützt nur Mäuse und zwar zwei, von denen die eine 0,1 ccm, die andre 0,5 ccm des Eiters in die Bauchhöhle bekommt.

Ist das Empyem eine sehr dicke Masse, die nicht durch die Kanüle einer gewöhnlichen Spritze geht, so muss man stärkere Kanülen anwenden, die ebenfalls vorher in 1%iger Sodalösung ausgekocht werden, Kanülen von einer Stärke, wie bei dem Potin- oder Dieulafoyschen Apparat, den man zur Ansaugung benützt. Die Flasche muss vorher mit 1%iger Sublimatlösung, dann mit Alkohol (allenfalls noch mit Aether) ausgespült sein. Am besten aber schreitet man bald zum Brustschnitt.

Von dem mit der Ansaugung, oder nach der Rippenresektion und Durchstechung des Brustfells gewonnenen Inhalt entnimmt man Proben in sterilisierte Kölbchen oder Reagensröhrchen, die man nebst einigen Agarschalen, Platindrähten und -Oesen, sowie einer Spirituslampe mit ins Operationszimmer bringt.

Die grössern Mengen Exsudats lassen sich mit viel mehr Aussicht auf Erfolg zur mikroskopischen Durchforschung, insbesondre zur Untersuchung auf Tuberkelbazillen verwenden.

Unter den auf Seite 353 ff. aufgeführten Methoden zur Homogenisierung und Sedimentierung lässt sich die einfachste, die Erhitzung im Dampfe nicht anwenden, weil die pleuritischen Ergüsse, namentlich die serösen, wie Blutserum zu einer Gallerte gerinnen. Man greift am besten zum Biedertschen Verfahren, versetzt den Erguss mit Natronlauge und kocht unter allmählicher Zugabe von Wasser. Bei hämorrhagischen Exsudaten muss nach B. Meyer*) der Alkalizusatz erfolgen, ehe es zur Gerinnung kommt, weil sonst der Blutkuchen durchs Kochen in eine derbe Masse verwandelt wird. Das mit Natronlauge gekochte Exsudat wird zur Sedimentierung im Spitzglase aufgestellt oder besser durch die Zentrifuge ausgeschleudert. Liegt dicker, rahmiger Eiter vor, der auf das Vorhandensein von Tuberkelbazillen unter-

*) Zentralbl. f. klinische Medizin 1891. S. 105.

sucht werden soll, so lässt man vor der Anwendung des Biedertschen Verfahrens die dicksten Teile erst absetzen.

So ist man imstande, auch spärlich vorhandne Tuberkelbazillen noch nachzuweisen. Nur darf man bei negativem Ausfalle des Versuches nicht auf ihre Abwesenheit schliessen.

Staphylokokken geben sich am besten in der Agarkultur zu erkennen.

Etwas schwieriger ist die Unterscheidung der Streptokokken und der A. Fränkel-Weichselbaumschen lanzettförmigen Pneumonie-Kapselkokken. Auf der Agarplatte ähneln sich die Ansiedlungen beider sehr, besonders die jungen. Bei beiden findet sich das zierliche Maschenwerk, manchmal aber wird es bei den Pneumoniekokken vermisst, meistens aber ist es wenigstens viel kleiner, die Kolonie sieht mehr, wie ich es nennen will, geschlossen aus und wird im Innern später leicht gelblich. Daran kann mitunter das geübte Auge den Unterschied erkennen; aber oft ist es sehr schwer. Man braucht bloss eine Maus mit den beiden Bakterienarten zu impfen und nach dem Tode Plattenaussaaten aus dem Blut zu machen (es finden sich beide Arten darin vor), um zu sehen, wie schwierig die Auseinanderhaltung ist. Werden die Kulturen älter, so tritt das Geschlossne der Kolonie, der Mangel des Maschenwerkes am Rande noch mehr zu Tage, und in der Mitte ist eine dunklere Zone. Ich habe im Photogramm Taf. III Nr. 15 eine Abbildung davon gegeben.

Ein merklicher Unterschied bietet sich im Kettenverbande der beiden Arten. Macht man von der Agarplatte je ein Klatschpräparat, so findet man nach der Färbung beide Male kapsellose, kurze Ketten, die sich wenig unterscheiden, aber auch längere und diese sind bezeichnend. Wie die Photogramme Taf. I Nr. 4 und Taf. III Nr. 14 darthun, sind die Ketten des Pneumoniecoccus auffallend starr, die des Streptococcus mehrfach geschlängelt, deutlich aus kurzen Kettchen bestehend, die aussehen, als wollten sie zu mehreren Stücken abbrechen.

In Bouillonkulturen bilden die Streptokokken den reichlicheren Bodensatz.

Auf Gelatine gehen die lanzettförmigen Kokken kaum an, man müsste sie denn so zäh herstellen, dass sie bei 24° noch beständig ist.

Die Wachstumsenergie des Pneumoniecoccus ist überhaupt auf unsern künstlichen Nährboden eine recht geringe, er geht bald ein und verliert noch rascher seine Virulenz, weshalb er, wenn er evident gehalten werden soll, immer durchs Tier geschickt werden muss.

Der günstigste Alkalitätsgrad liegt meinen Untersuchungen zufolge bei einem Zusatze von 1—2,5 % Normalnatronlauge zum Nähragar.

Etwas reichlicher und sogar unter Kapselbildung soll der Diplococc. lanceolatus auf sterilisiertem Auswurf gedeihen (A. Schmidt, C. f. klin. Med. 93. 627).

Am schnellsten und sichersten gelingt die Unterscheidung der Strepto- und Pneumoniekokken im parasitischen Zustand. In den Ausstrichen der erkrankten Organe tritt beim Pneumoniecoccus eine deutliche

Kapsel in die Erscheinung, die sich leicht darstellen lässt, wenn man die Zielsche Karbolfuchsinlösung auf das Präparat träufelt und alsbald wieder mit Wasser, allenfalls noch 1 Sekunde in verdünntem Spiritus abspült (für Schnitte dürfte sich verdünnte Zielsche Lösung empfehlen). In vermehrter Menge und darum noch deutlicher, findet man die kapseltragenden Kokken im Blute und in den Organen von Tieren. Kaninchen, die sich den Streptokokken gegenüber eher ablehnend verhalten, sind ein sehr geeignetes Objekt für die Pneumoniekokkenimpfung. Doch zieht man gewöhnlich die kleinere, leichter zu habende und ebenso geeignete weisse Maus vor. Sie erliegt der Impfung mit Pneumoniekokken, wie ich mich in einer längern Versuchsreihe überzeugte, fast zu derselben Stunde, wie eine andre der Impfung mit auf den Mauskörper gut „akklimatisierten“ Streptokokken, binnen 2—3 Tagen. Der erste Ausstrich aus dem Schenkelblut oder aus der Drüse zeigt hier die Kettenkokken, dort die Kapselkokken, manchmal zu kurzen Verbänden, meist aber einzeln oder zu zweien liegend, in diesem Falle ihre Breitseite einander zuwendend; denn sie sind nicht rund, sondern haben eine zuckerhutartige, lanzettförmige oder kerzenflammenähnliche Form, wie im Photogramm Taf. III Nr. 16 zu sehen. Markantes bietet der sonstige Leichenbefund nicht; mehr bei der Streptokokkenseptikämie: die Drüsen sind etwas stärker geschwollen, namentlich ist es die Milz, die ausserdem öfters von gelben Punkten (koagulationsnekrotischen Herden) durchsetzt ist, was ich bei der Pneumoniekokkenseptikämie nicht beobachtet habe.

Die Literatur über die Befunde in pleuritischen Ergüssen ist sehr umfangreich. Die ersten eingehenderen Untersuchungen finden sich bei A. Fränkel (Charitéannalen 13. 147) und Weichselbaum (Wiener med. Jahrb. 86. 550). Später hat unter vielen andern Netter ein reichhaltiges Material verarbeitet; in eitrigen Ergüssen fand er 51mal Streptokokken, 32mal Pneumoniekokken, 12mal Tuberkelbazillen und 15mal Fäulnisbakterien, in 41 serösen Ergüssen wurden durch Meerschweinchenimpfungen 15mal Tuberkelbazillen festgestellt (Cr. 8. 625: H. 1. 921).

Prinz Ludwig Ferdinand von Bayern wandte dann neuerdings dieser wichtigen Frage seine Aufmerksamkeit zu. Seinen Forschungen zufolge waren in 9 serösen Exsudaten 2mal Pneumoniekokken, 2mal Staphylokokken, bei 5 scheinbar bakterienfreien Ergüssen handelte es sich 4mal um Tuberkulose, und wahrscheinlich war dies auch beim 5., nach Influenza entstandnen Ergusse der Fall. Unter 12 Empyemen waren in zweien Diplokokken vorhanden, in 5 Streptokokken, in 2 weitern beide Bakterienarten gleichzeitig, 2mal waren Tuberkelbazillen und 1mal Strepto- und Staphylokokken nachweisbar. Ein serös-eitriges Exsudat enthielt Diplokokken, ein jauchiges neben Proteus und Sarcinen Staphylokokken (D. Arch. f. klin. Med. 50. 1).

Im übrigen kommen gelegentlich im Empyemeiter andre Bakterien, Micrococcus tetragonus z. B. vor, aber gegenüber den besprochnen selten. Nach Typhus hat man, wie in Abscessen, so auch im Brusthöhleneiter Typhusbazillen gefunden. Entsprechend seinen Entstehungsbedingungen wird sich eben der Bakterienbefund ändern; Streptokokkenpleuritis kann man nach Mandelentzündungen ent-

stehen sehen, wie ich deutlich in einem Fall verfolgen konnte, Staphylokokkenpleuritis nach Abscessen oder Furunkeln (Huguenin, H. 3. 487), Goldscheider*) fand sie nach Gelenkrheumatismus sogar in der serösen Ausschwitzung. Im Gefolge der Grippe entstehen mitunter eitrige Brustfellentzündungen, die meist durch Sekundärinfektion mit Strepto- oder Kapselkokken hervorgerufen sind, jedoch auch von Influenzabazillen verursacht sein können. R. Pfeiffer (Z. 13. 378) fand in der eitrigen Auflagerung der Pleura enorme Mengen seiner Influenzabazillen in Reinkultur und grösstenteils in das Protoplasma der Eiterkörperchen eingelagert, und dieselben Stäbchen im abgekapselten eitrigen Exsudate, das der Lunge in ½ cm Dicke auflag.

Was die Untersuchung von entzündlichen Auflagerungen und Ausschwitzungen der Brustorgane bei Leichen betrifft, so gelten dieselben Methoden, wie beim Lebenden. Quillt der Inhalt gleich bei der Eröffnung der Brustwand heraus, ohne dass die Haut vorher durch Desinfektion vorbereitet ist, so lässt man die Durchschneidung der Rippenknorpel vollenden, zieht das Brustbein ab und saugt mit einer Spritze oder schöpft mit einem sterilisierten Glase (Kölbchen oder Schälchen) eine Probe heraus. Fibrinöse Auflagerungen werden von verschiednen Stellen entnommen und verimpft, namentlich bei beiderseitiger Pleuritis; die Erreger können verschieden sein. Den Herzbeutel kann man leicht unter aseptischen Vorsichtsmassregeln eröffnen, um seinen Inhalt zur Untersuchung zu bekommen. Sehr lehrreiche Bilder liefern Schnitte, die durch die pleuritische Schwarte und durch das anliegende Lungengewebe gehen; man kann z. B. die Lunge bakterienfrei und auf der andern Seite, in der Pleura, dichte Haufen der Krankheitserreger finden.

Für die Untersuchungen von Ausschwitzungen und Auflagerungen in der **Bauchhöhle** kommen dieselben Gesichtspunkte und Methoden, wie bei denen der Brusthöhle in Betracht. Ist von ihr aus die Entzündung fortgeleitet, so werden auch die Krankheitserreger dieselben sein. Aber auch in Fällen primär entstandner Bauchfellentzündung kann sich der Bakterienbefund mit dem obigen decken, denn weder die Tuberkelbazillen, noch die Strepto-, noch die Pneumoniekokken haben ihr Ansiedlungsgebiet ausschliesslich in der Brusthöhle. Im Gegenteil: allerorts im Körper rufen die Tuberkelbazillen die eigentümlichen Infektionsgeschwülste hervor und seröse Ausschwitzungen, wenn sie an und in serösen Häuten ihren Sitz aufgeschlagen haben; die Strepto- und Pneumoniekokken sind Blutparasiten, die überall entzündliche Ausschwitzung und Eiterung erregen können; für eine septikämische Verbreitung sind in erster Linie die Kettenkokken geeignet. Eine hervorragende Rolle spielen sie bei der Erregung der Bauchfellentzündung im Anschluss an das Puerperium, wo ihnen eine bequeme Eintrittspforte offen steht. Ferner wird ihnen durch mancherlei Erkrankungen der weiblichen Geschlechtsorgane der Weg geebnet. Vielleicht ist der Gonococcus allein einmal die Ursache einer Peritonitis, das wäre ein seltner Fall und eigens zu verzeichnen, für

*) Zeitschr. f. klin. Medizin 21; s. a. Jakowski daselbst 22. Bd.; ferner verweise ich auf Levy, Arch. f. exp. Pathol. 27. 369.

gewöhnlich sind nachträglich eingewanderte Eitererreger, Staphylokokken u. s. w. dafür verantwortlich zu machen*).

Für die Entstehung der Peritonitis kommt ferner die Nähe des ausserordentlich bakterienreichen Darmrohrs in Betracht, das neben harmlosen, sogar der Verdauung der Speisen förderlichen Saprophyten eine Anzahl pathogener Bakterien beherbergt, die für gewöhnlich nur durch die unversehrte Darmschleimhaut am Eintritt in den Körper gehindert werden. Wichtig ist hier eine Bakterienart, oder besser gesagt, eine Gruppe von Bakterien, deren Einzelglieder noch nicht genügend auseinander zu halten sind, und die man mit dem Namen Bacterium coli commune zusammenfasst. Erst verhältnismässig spät wurde man gewahr, welche krankheitserregende Wirkung diesem Kleinwesen nicht bloss in der Nähe seines natürlichen Sitzes zukomme. Dass es bei vorhandnen entzündlichen Zuständen nach dem Peritoneum durchwandern kann, ist durch natürliche Vorkommnisse und im Versuche von A. Fränkel (J. 7. 31) erwiesen, der nach künstlichem Darmverschluss bei Tieren eine durch den Kolibacillus bedingte Bauchfellentzündung entstehen sah. Selbst durch die unversehrte Serosa hindurch können Infektionserreger auf dem Wege der Blut- und Lymphbahnen vom Darm her in die Bauchhöhle gelangen**).

Eine vom Darm ausgehende, tödlich verlaufende, durch eine Mukorart bedingte Schimmelpilzerkrankung beobachtete Paltauf, und Ris fand im Granulationsgewebe einer Cyste des grossen Netzes Riesenzellen mit eingeschlossnen, eigentümlich strahligen Gebilden, die Ribbert als unvollkommen entwickelte Teile von Schimmelpilzen, herrührend von einer durchgebrochnen Mykose des Darms, ansprach, die eine unter cystenartiger Abkapselung ausheilende lokale Entzündung hervorgerufen habe (Cr. 14. 406).

Bunt wird das Bild bei einem Durchbruch der Darmwand. Dann lässt sich nicht immer mit Bestimmtheit ermitteln, welche von den zahlreich eingedrungnen Bakterienarten den verhängnisvollen Ausgang herbeigeführt hat, wenn nicht die Untersuchung des Bluts und der übrigen Organe einen Bakterienbefund liefert, der unzweifelhaft auf Septikämie schliessen lässt. Neben den Kolibakterien hat man bei solchen Bauchfellentzündungen selbstverständlich auch die andern Darmbewohner gefunden und das Bacterium lactis aërogenes speziell namhaft gemacht; werden nur unsre Kenntnisse von den Darmbakterien mehr ins einzelne vertieft sein, so werden sich auch die verschiednen Befunde bei der Perforationsperitonitis häufen (s. auch Barbacci, Cr. 14. 639).

Ergüsse in Gelenke werden ebenfalls ähnlich, wie oben angegeben, untersucht. Zur Gewinnung kleiner Proben beim Lebenden hat Schüller

---

*) Eine klinische Abhandlung über Bauchfellentzündung infolge des Harnröhrentrippers mit ausführlichen Literaturangaben schrieb v. Zeissl, Allg. Wiener medic. Zeitung 1892.

**) Ich verweise auf die reichhaltige Monographie von Tavel und Lanz, Ueber die Aetiologie der Peritonitis. Ein Beitrag zur Lehre der Kontinuitätsinfektionen und der Kontinuitätsentzündungen. Mit 8 Tafeln in Lichtdruck. Heft 1 der Mitteilungen aus Kliniken und medizinischen Instituten der Schweiz. Basel und Leipzig bei C. Fallmann. 1893.

(B. 93. 866) eine vorne schräg abgeschnittne Hohlnadel oder Stichkanüle fertigen lassen, deren Höhlung durch einen Stahlstift oder Stachel genau ausgefüllt war. Das sterilisierte Instrument wird nach vorschriftsmässiger Reinigung und Desinfektion der Haut in die Gelenke der Finger, Hände u. s. w. eingestochen und der Stachel hernach ein wenig zurückgezogen, wobei stets etwas Flüssigkeit oder Gewebsaft in die Hohlnadel eintritt. Hierauf wird die Stichkanüle ganz entfernt und, indem der Stachel wieder vorgeschoben wird, ihr Inhalt alsbald auf den Nährboden ausgesät. Die kleine Einstichstelle wird sofort mit Jodoformkollodium und Watte verbunden und das Gelenk in einem kleinen Schienenverband fixiert.

Bei Verdacht auf Tuberkulose ist der Meerschweinchenversuch heranzuziehen. Wie bei den Pleuraexsudaten ist auch bei den durch Tuberkulose verursachten Gelenkergüssen der Bazillenbefund gewöhnlich ein sehr spärlicher. Man hat angenommen, dass in solchen Fällen entweder Bazillen vorhanden wären, die an ihrer Färbbarkeit Einbusse erlitten hätten (z. B. Watson-Cheyne, J. 7. 801), oder dass nur Sporen darin enthalten seien. Die erstere Möglichkeit ist meiner Ansicht nach mehr als zweifelhaft, die andre überhaupt ausgeschlossen, denn die Tuberkelbazillen bilden keine Sporen, vielmehr liegt der Grund des häufig negativen Ergebnisses in der Bazillenarmut der Flüssigkeiten überhaupt, deren Ausschwitzung das Ergebnis der krankhaften Veränderungen ist, die von den im Gewebe zur Ansiedlung gekommenen Schmarotzern hervorgerufen wurden.

Bei eitrigen Gelenkentzündungen wurden in der Regel die Trauben- und Kettenkokken, manchmal die Pneumonie-Kapselbakterien gefunden (unter andern von Macaigne und Chipault, Boulloch; J. 7. 86).

In den die Tripperkrankheit begleitenden oder ihr folgenden Gelenkergüssen hat Deutschmann (J. 6. 139) zuerst den bis dahin darin nur vermuteten Gonococcus in den Eiterzellen liegend nachgewiesen; später kamen auch von andrer Seite diesbezügliche Mitteilungen (Jaquet, M. f. pr. D. r. 15. 137; Arfus Wr. 93. 174 u. a.).

Die ursächliche Forschung beim Gelenkrheumatismus hat noch zu wenig sichern Zielen geführt. Sahli fand zwar den Staph. pyog. citreus — mit fehlenden pathogenen Eigenschaften fürs Tier — in den Gelenken, wie auch in den gleichzeitig bestehenden endokarditischen Auflagerungen, perikardischen und pleuritischen Ergüssen und geschwellten Bronchialdrüsen, woraus mir eher hervorzugehen scheint, dass es sich um eine Septikämie handelte; später will S. auch aus mehreren andern Gelenkergüssen, die während des Lebens punktiert wurden, sowie aus dem Blut bei Gelenkrheumatismus Staphylokokken gezüchtet haben (Mr. 93. 589).

Ich habe einmal bei einem Gelenkrheumatiker Blut aus der Lendengegend mit dem Schröpfkopf entnommen und die ganze erhaltne Menge von mehreren Kubikzentimetern in verschiednen Schalen und Petruschkyschen Flaschen mit Glyzerinagar vermischt: negatives Ergebnis.

Nach Bouchard war in 6 von 10 Fällen von subakutem und chronischem Gelenkrheumatismus in den Gelenkergüssen der Staphylo-

coccus albus allein, einmal zusammen mit dem St. aureus vorhanden; zweimal blieben die Aussaaten steril. Bei Kaninchen soll die künstliche Erzeugung des Gelenkrheumatismus mit Kulturen gelungen sein (Mr. 91. 734).

Schüller (s. o.) züchtete aus dem Inhalte chronisch-rheumatisch entzündeter Gelenke auf Gelatine kurze, plumpe, mit seitlicher Einschnürung und glänzenden Polkörnchen versehene Stäbchen, deren Kulturen zu 0,3—1,0 ccm Kaninchen in die Gelenke gespritzt, eine ähnliche krankhafte Veränderung mit Zottenbildung ohne Eiterung hervorriefen, und unter die Bauchhaut gegeben, das Tier binnen 24 Stunden töteten, worauf sich grosse Mengen der Bakterien im Blute fanden.

Eiterherde an und in den **Knochen** werden bakteriologisch in derselben Weise untersucht, wie im Zellgewebe. Hat der Operateur den Herd blossgelegt und aufgemeisselt, so werden von dem herausquellenden Eiter Proben zur mikroskopischen und kulturellen Untersuchung und zur Tierimpfung entnommen (ich verweise auf meinen S. 316 beschriebnen Mäuseversuch).

Die akute Osteomyelitis wird ausschliesslich durch die eitererregenden Traubenkokken verursacht (Becker, Ogston, Rosenbach u. a.). Zwar wurden später auch noch andre Bakterien, namentlich Ketten- und Pneumoniekokken als Erreger namhaft gemacht*), aber es handelte sich dann, wie K. Müller (M. 93. 910) darlegte, um Prozesse, die ins Gebiet der Ostitis und Periostitis gehörten, während die typische, akute eitrige Knochenmarkentzündung lediglich das Werk von Staphylokokken ist.

Der Staphylococcus pyogenes aureus wurde auch bei der Osteomyelitis der Gänse durch Lucet (P. 6. 841) gefunden, was für etwaige Tierversuche von Interesse sein würde, wenn sie von besserm Erfolge begleitet gewesen wären. Lucet gelang es nur, wenn er grosse Mengen — 5 ccm — der Bouillonkultur in die Flügelvene einspritzte, osteomyelitische Erscheinungen hervorzurufen, denen die Gänse binnen 3 Tagen erlagen. Unter die Haut gegeben, blieben selbst beträchtliche Gaben von 20 ccm der Kultur unwirksam.

Mit der Aussenwelt durch Fistelgänge in Verbindung stehende Knochenherde sind oft tuberkulöser Natur. Soll darüber Gewissheit werden, so verwendet man am geeignetsten mit dem scharfen Löffel oder sonstwie herausbeförderte Eiter- und Gewebsteile zur Ueberimpfung auf Meerschweinchen. Die Plattenkultur wird ein Gemenge verschiedner Bakterien aufdecken, die sich in zweiter Linie an der erkrankten Stelle angesiedelt haben und darunter die bekannten Eitererreger kaum vermissen lassen.

---

*) Fischer und Levy, Bakteriologische Befunde bei Osteomyelitis und Periostitis. Deutsche Zeitschr. f. Chir. 36. 1. Mr. 93. 346.

Garrè, Ueber besondre Formen und Folgezustände der akuten infektiösen Osteomyelitis. Beitr. z. klin. Chir. 10. 2. Cr. 14. 244.

Jordan, Die akute Osteomyelitis und ihr Verhältnis zu den pyogenen Infektionen; daselbst 10. 3. S. 587; Cr. 14. 634.

Fistelgänge, wie sie bei Erkrankung an **Aktinomykose** bestehen, entleeren in der Regel keinen Eiter, sondern eine schleimig gelatinöse Flüssigkeit, die in bald grösserer, bald geringerer Menge die für die Strahlenpilzaffektion bezeichnenden schwefelgelben Körnchen mit sich führt. Wer sie einmal gesehen hat, erinnert sich des Aussehens dieser Körnchen leicht wieder. Man verabsäume nicht, von einem solchen Bilde Kenntnis zu nehmen, was auch an Krankheitsprodukten von Tieren möglich ist, und suche sich vom Schlachthofe ein Stück eines aktinomykotisch erkrankten Kiefers, vom Rinde z. B., zu verschaffen. Man wird den beträchtlich aufgetriebnen und doch teilweise eingeschmolznen Knochen von der schwammigen, breiig gallertigen Gewebemasse durchwuchert und in dieser ohne Mühe die gelben Körnchen finden, die man nur zwischen Objektträger und Deckglas zu zerdrücken braucht, um im ungefärbten Präparate mit starkem Trockensystem die unregelmässig geformten Klümpchen des Strahlenpilzes mit ihren sternförmigen und kolbigen Ausläufern wahrzunehmen. Zur Färbung von Schnitten eignet sich ebensowohl die Weigertsche, wie die Gramsche Methode. Die Kolben färben sich aber mit keiner von beiden. Das im Photogramm Taf. IV Nr. 23 wiedergegebne Objekt ist ein nach Weigert gefärbter Schnitt durch die Lunge eines Rindes, worin man, eingebettet in eine Masse von Rundzellen, das längliche Gebilde mit den strahlenförmigen Randausläufern erkennt. An der Grenze der Rundzellenanhäufung sind auch die (farblosen) hellen Kolbenbüschel vorhanden. Diese Kolben sind wahrscheinlich Involutionsformen; sie werden in der Kultur nicht gefunden.

Die Züchtung des von Bollinger beim Tier und ein Jahr später (1878) von J. Israel beim Menschen entdeckten Strahlenpilzes wurde in vollgültiger Weise von M. Wolff und J. Israel (V. 126. 11) durchgeführt.

Das unter anaëroben Bedingungen besser, als bei Luftzutritt, und nur bei Körperwärme gedeihende Kleinwesen wird von diesen Forschern „gegenüber den eigentlichen, einförmigen monomorphen Bakterien zu der höher organisierten Gruppe der sog. pleomorphen Bakterien“ gezählt, die bei ihrer Entwicklung einen weiten Formenkreis zu durchlaufen vermögen.

Auf Nähragar zeigen die aufkeimenden Ansiedlungen ausgesprochene Neigung zur Knötchenbildung, fliessen selten zusammen, sind kuppenförmig abgedacht und besitzen einen mit runden Ausbuchtungen versehenen Rand. In die unterliegende Nährschichte treiben sie förmliche Wurzeln. Das Kondenswasser, auf dessen Grunde sie gut gedeihen, trüben sie nicht. Sie bleiben in solchen Kulturen bis zu 9 Monaten lebensfähig.

In den ersten Tagen nach der Aussaat findet man kurze, gerade oder gekrümmte, daneben auch plumpe, an einem Ende oft knopfförmig angeschwollne (färbbare) Stäbchen, die später zu langen, teilweise segmentierten oder kokkenartig gegliederten Fäden auswachsen.

Das Fadennetz bildet sich besonders schön in rohen oder in 3—4 Minuten lang gekochten Hühner- (und Tauben-)Eiern. Die Fäden sind entweder feiner oder dicker, ähnlich den elastischen Fasern, selbst bandartig breit; die feinern tragen am Ende eine (färbbare) Anschwellung. Die Eier zeigen weder Gasbildung, noch Geruch, noch Verfärbung.

Bouillon, die sich nicht besonders zur Züchtung eignet, bleibt klar.

Die häufig beobachteten kokkenartigen Formen, hellglänzende, in ihrem Wesen noch nicht aufgeklärte Körnchen, sind keine Kokken, auch keine Sporen, weder Detritus noch Kunsterzeugnisse.

Keulen, die die Färbung nicht annehmen, gibt es in Kulturen nicht.

Durch Einverleibung zerschnittner Agarkulturen in die Bauchhöhle von Kaninchen und Meerschweinchen konnten Wolff und Israel die Aktinomykose bei den Tieren künstlich hervorrufen.

Bei Hammeln schlug die Impfung nicht an.

Die Aktinomykose des Menschen scheint etwas verschieden von der der Rinder zu sein; eher scheint sie der Aktinomykose des Schweins zu gleichen.

Actinomyces Hofmanni ist eine von dem (einer Laboratoriumsrotzansteckung erlegnen) v. Hoffmann-Wellenhof und von Th. v. Genser in Grubers Institut untersuchte, krankheits- d. h. bei Kaninchen eitererregende Art, die grosse Aehnlichkeit mit Aktinomyces zeigt (Cr. 10. 647).

Auftreibungen des Knochens und Zerstörung der Weichteile unter Bildung schwammigen Gewebes kommen bei der **Madurahand** und beim **Madurafuss** vor. Die in Ostindien heimische Krankheit besteht in einer örtlichen, sich ausbreitenden Entzündung der Hand oder, was viel häufiger ist, des Fusses. Sie wird bei barfuss gehenden und auf dem Felde arbeitenden Personen meist nach einer Verletzung beobachtet und ist durch erhebliche Gewebezerstörung und Hyperplasie gekennzeichnet, besonders durch zahlreiche, fischrogenähnliche, bisweilen schwarze (niemals gelbe) Partikelchen (Boyce)*). Gemy und Vincent fanden verästelte Stäbchen darin, ähnlich der Cladothrix, die in Heuaufguss züchtbar, für Tiere nicht pathogen waren (F. 10. 831). Nach Klebs (Allg. Path. 1. 416) wird die Krankheit von einem wahrscheinlich den Mukorineen zugehörigen Pilze, der Chionyphe Carteri erzeugt.

Ohr.

Im Gehörorgane spielen sich mancherlei, durch Bakterien bedingte Erkrankungen ab: im äussern Gehörgange Furunkel und Zellgewebentzündungen mit den bekannten Staphylokokken, Streptokokken, ausnahmsweise mit dem Bac. pyocyaneus, als Erregern oder Begleitern; Entzündungen der Schleimhaut in der Eustachischen Trompete und in der Paukenhöhle mit oder ohne schleimige Ausschwitzung oder Eiterung, die mitunter auf die benachbarten knöchernen und weichen Teile übergreift.

Ist bei Mittelohrerkrankungen der Durchbruch durch das Trommelfell bereits erfolgt, so macht die Entnahme von Proben zwar keine Schwierigkeiten, aber vom Bakterienbefund in der eitrigen, oft stinkenden Absonderung ist ein eindeutiges Ergebnis um so weniger zu erwarten, je länger der Ausfluss bereits besteht. Man taucht entweder eine Platinöse in das Sekret und legt damit

*) Londoner Gesellschaft für Pathologie; Sitzung vom 18. April 1893; r. D. Med. Ztg. 93. 775.

Platten an, oder man macht die Aussaat aus einem Teile der Spülflüssigkeit. Die Haut in der Umgebung muss gründlichst gereinigt, desinfiziert und mit Aether getrocknet sein, dann wird mit der sterilisierten Spritze und mit ebensolchem Wasser in eine untergehaltne sterilisierte Schale ausgespült.

Ein zuverlässigeres Ergebnis ist von der Aussaat des Eiters zu erwarten, der sogleich nach der künstlichen Durchstechung oder Durchbrennung des Trommelfelles austritt, man fängt davon alsbald mit einer sterilisierten Platinöse etwas ab. Auch die unter den gedachten Vorsichtsmassregeln vorgenommene Ausspülung, vielmehr die in der Flüssigkeit schwimmenden Eiterflöckchen können benützt werden.

Soll aber das Trommelfell zunächst noch erhalten bleiben, so muss man mit der Absonderung vorlieb nehmen, die man aus dem Nasenende der Trompete gewinnen kann, in der Erwägung, dass man auch hier die Krankheitserreger treffen wird, wenn die Mittelohrentzündung von Keimwesen herrührt, die von der Nasenhöhle her durch die Trompete eingewandert sind.

De Rossi bediente sich eines silbernen Katheters und führte durch ihn einen feinen Platinfaden mit schlingenförmigem Ende bis zur Rachenmündung der Tube ein; Zaufal that dies unter Leitung eines eigens hergestellten Nasenspiegels. Da sich jedoch hiebei nicht hergehörige Bakterien schwer ausschliessen lassen, so übten Maggiora und Gradenigo folgendes einwandfreiere Verfahren (C. 8. 582; 10. 625):

Ein ausgeglühter und wieder erkalteter, silberner Katheter wird mit einem sterilisierten Wattepfropf zum Schutz gegen das Eindringen von Nasensekret fest verschlossen. Dieses Pfröpfchen ist an einen sterilisierten Faden gebunden, der aussen bleibt und nach der Einführung des Katheters zum Nasenloch heraushängt. Ist die Kathetermündung an der Tube angelangt, so wird am Faden gezogen und der Pfropf von ihr entfernt. Alsbald wird dann ein Instrument zur Sekretentnahme in die Tube eingeführt. Als solches erwies sich ein aufgerauhter Platindraht mit abgestumpftem Ende wegen der möglichen Verletzungen nicht geeignet; dafür kamen in der Folge die von Urbantschitsch abgeänderten Celluloid-Bougies zur Verwendung, die durch wiederholte energische Reibungen mit sterilisierter Baumwolle keimfrei gemacht wurden, was bei der glatten Oberfläche der Sonden möglich war. Eine solche Bougie wurde durch den silbernen Katheter mehr als 1 cm weit in die Tube eingeführt, mehrere Male darin hin und her bewegt und nach dem Herausziehen in Röhren mit Gelatine und Agar zur folgenden Plattenaussaat abgespült.

Bei derartigen Untersuchungen findet man Bakterien, die sich als die Erstlingserreger der Entzündung und ihrer Folgen auf der vorher ganz gesunden Schleimhaut ansprechen lassen, in vielen Fällen aber müssen sie als nachträgliche Einwanderer angesehen werden, denen das von einer vorausgegangnen Krankheit vorbereitete Feld eine günstige Ansiedlungsstätte bietet, so z. B. bei Entzündungen des Gehörorgans im Gefolge von Mandelentzündung oder von echter Diphtherie, oder von Grippe, von Masern, Scharlach u. s. w. Diphtheriebazillen sind

bis jetzt in der Paukenhöhle noch nicht angetroffen worden, wohl aber Influenzabazillen. Es gelang R. Pfeiffer (Z. 13. 380), die von ihm entdeckten Bazillen im eitrigen Inhalt der Paukenhöhlen neben zahlreichen lanzettförmigen Diplokokken in grosser Menge teils frei in Eiterzellen nachzuweisen und sie durch das Kulturverfahren auf Blutagar zu identifizieren. Auf welche Weise die Züchtung gelingt und wie der Influenzabacillus zu erkennen ist, darüber später (S. 374).

Mit am häufigsten sind im Paukenhöhleneiter Kettenkokken zu finden; dabei ist jedoch Vorsicht im Urteil geboten; nicht jeden durch das Plattenverfahren oder gar nur im gefärbten Ausstrich nachgewiesnen Kettencoccus dürfen wir als identisch mit dem gefährlichen Eitererreger ansehen, ähnlich wie das bei der Untersuchung des Mandelbelages der Fall ist, von dem aus Ohrenkrankheiten nicht selten ihren Ursprung nehmen, und worin zwar fast immer Streptokokken, keineswegs aber stets virulente vorkommen (s. S. 350). Für eine einwandfreie Untersuchung ist daher die Verimpfung der Bouillonkultur des mit der Agarplatte rein gewonnenen Kettencoccus auf eine Maus (Einspritzung von $^1/_4$—$^1/_2$ ccm in die Bauchhöhle) erforderlich.

Von den wichtigern Krankheitserregern ist man beim Mittelohrkatarrh ausser den Streptokokken folgenden begegnet: Den Tuberkelbazillen, den gelben, weissen und zitronenfarbnen Traubenkokken, den Kapselbakterien Fränkel-Weichselbaums, wie Friedländers; ferner dem Micrococcus tetragonus, dem Bac. pyocyaneus, dem Proteus vulgaris, selbst den Gonococcus will man, bei Neugebornen wenigstens, gefunden haben (Flesch, B. 92. 1234). Die Reihe der nicht krankheitserregenden ist bunt, namentlich bei chronischen Ohrenflüssen. Verwiesen sei auf die Abhandlung von Moos, D. 91. 392, mit ihrer ausführlichen Literaturzusammenstellung. Dieser Forscher hat später gezeigt, wie die (nach Diphtherie eingewanderten) Ketten- und Traubenkokken durch ihr Eindringen in die Schwannschen und in die Markscheiden Zerfall des Markes, Untergang der Nervenfasern und Kernwucherung bis zur völligen Leitungsunterbrechung herbeiführen können (V. 124. 546).

Im Gehörgange siedeln sich nicht eben selten krankheitserregende Schimmelpilze an, Aspergillusarten am häufigsten. Sie zeichnen sich von den gewöhnlich vorkommenden ausser durch den Bau ihrer Früchte dadurch aus, dass sie Körperwärme bevorzugen, die namentlich für die ersten Ansätze der Kultur ein notwendiges Bedürfnis ist. Sie müssen einwandfrei durch das Plattenverfahren getrennt und auf ihre krankmachende Wirkung durch Einspritzung in die Ohrvene von Kaninchen u. dgl. geprüft werden. Sie erliegen der Infektion binnen 4—8 Tagen. In dem von Schimmelpilzen durchwachsnen Körper findet man bloss Mycel, keine Fruchtbildung; die Artbestimmung kann also nur durch die künstliche Kultur erfolgen.

Die bis jetzt bekannten krankheitserregenden Aspergillusarten, die auch als Schmarotzer im menschlichen Ohre getroffen werden, stellte Lindt im Arch. f. exp. Path. 25. 270 folgendermassen zusammen:

Aspergillus fumigatus (Fresen), den man bis dahin botanisch zu den Fungi imperfecti zählte, da man von ihm nur den Conidienzustand kannte und

nicht wusste, ob er Sklerotien bilde, d. h. ein echter Aspergillus sei, oder sich schliesslich als Eurotium entpuppen werde. Das erstre scheint der Fall zu sein nach Olsen, der angibt, die Sklerotien gefunden zu haben.

2. Aspergillus flavus oder flavescens (Brefeld, Wreden), auch nur im Conidienzustand bekannt.

3. Aspergillus niger oder nigricans (v. Tieghem, Wreden), zu den Sterigmatocystisarten gehörig, weil er verzweigte Sterigmen hat. Seine Fruchtkörper sind von v. Tieghem gefunden und von Wilhelm als Sklerotien genau beschrieben worden. Ist für Kaninchen unschädlich.

4. Aspergillus nidulans (Eidam) von Siebenmann im Ohr gefunden. Dieser Pilz, für das Kaninchen pathogen, nimmt seines eigentümlichen Fruchtkörpers wegen eine Zwischenstellung zwischen den sklerotienbildenden Aspergillen und den Eurotien ein.

5. Eurotium malignum von Lindt im äussern Gehörgang gefunden und a. a. O. beschrieben, ist die erste bis jetzt bekannte pathogene Schimmelart, bei der die Organe der geschlechtlichen Fortpflanzung beobachtet worden sind. Der Pilzrasen ist blaugrün. Er bildet nur bei Körperwärme Perithecien, im Zimmer bloss Conidien. Seine Sporen töten, in die Blutbahn eingeführt, Kaninchen nach 4—5 Tagen.

Ausser Aspergillaceen wurde, wenn auch seltner, Mukor (Jakowski Cr. 5 388; Siebenmann*), selbst ein Pinselschimmel (Siebenmann) und Soor (Valentin C. 3. 534) im Ohre beobachtet.

Nase.

Die Entnahme von Absonderungen der Nase kann bei geringen Sekretmengen nach Erweiterung und Beleuchtung der Nasenhöhle durch Abstrich der mittlern und untern Muschel, der Scheidewand und des Bodens der Nase gemacht werden, bei reichlichern Sekretmassen, ebenso wie beim Ohre, durch direkte Entnahme mit der sterilisierten Platinöse oder durch Herausfischung eines Schleim- oder Eiterflöckchens aus dem Spülwasser mit folgender Plattenaussaat. Endlich lässt sich der ausgeschneuzte Schleim dazu verwenden, wenn die äussere Umgebung vorher regelrecht gereinigt und desinfiziert und ein sterilisiertes Schnupftuch benützt worden ist.

Die auf die eine oder andre Weise in dem Organe gefundnen Bakterienarten sind ziemlich mannigfaltig. Die verschiednen Ergebnisse der Untersucher sind jedenfalls von der Aussenwelt, der Umgebung, in der die Menschen lebten und deren Luft sie atmeten, beeinflusst und bedingt. So konnte Paulsen (C. 8. 344) in Kiel beim Gesunden ausser dem Kettencoccus — und diesen nur einmal — keine Bakterien finden, die an Krankheitserreger erinnerten, während v. Besser (Cr. 7. 151) in Wien öfters den Fränkel-Weichselbaumschen lanzettförmigen Kapselcoccus und das Friedländersche Kapselbakterium, den Trauben- und Kettencoccus neben einer Reihe nichtpathogener Kleinwesen nachgewiesen hatte.

Ebensowenig ist man bei den Forschungen über die Erreger des **Schnupfens** zu einheitlichen Ergebnissen gelangt. Ein „Diplococcus

*) Die Schimmelmykosen des menschlichen Ohres. Wiesbaden bei Bergmann 1889 und Monatsschr. f. Ohrenheilkunde 89. 413 (J. 5. 413).

coryeae“ lässt sich nach Klebs (Allg. Path. I. 326) in der Weise gewinnen, dass man die untern Teile der Nasengänge mit 1 % Sublimat desinfiziert. Dann schwindet bald der Eitergehalt und in dem schliesslich völlig zellenlosen Sekrete bleibt nach einigen Tagen nur der Diplococcus übrig, der dann leicht in Reinzüchtung gewonnen werden kann.

v. Schrötter und Winkler erhielten aus dem ganz klaren Schnupfensekret durch das Plattenverfahren zwei nicht verflüssigende Staphylokokkenarten, die in die Nasenlöcher junger Kaninchen eingeimpft Schnupfen erzeugten, während ältere Tiere auf diesen Eingriff nicht reagierten (Cr. 9. 801). Paulsen dagegen gelang es nicht, einen Mikroorganismus ausfindig zu machen, der dem Schnupfen eigentümlich wäre und sich in einen ursächlichen Zusammenhang mit ihm bringen liesse.

Beim Grippeschnupfen aber fanden sich im Gegensatz zu dem bakterienarmen Sekret des gewöhnlichen Schnupfens nach R. Pfeiffer (Z. 13. 369) die Influenzabazillen „in enormen Mengen, allerdings gewöhnlich mit andern Mikroorganismen gemischt, aber doch in überwiegender Anzahl. Das mikroskopische Bild war so charakteristisch, dass an der Influenzanatur des Nasenkatarrhs kein Zweifel sein konnte.“

Beim durchfressenden **Nasengeschwür** begegnete Hajek den bekannten Eitererregern, den gelben Trauben- und den Kettenkokken (V. 120. 497).

Nicht wenige Untersuchungen wurden der ursächlichen Erforschung der **Ozäna** gewidmet, einem Uebel, das, wenn es auch nicht den Eindruck einer ansteckenden Krankheit macht, doch von einem bestimmten Kleinwesen begleitet ist, das dem Friedländerschen, noch mehr dem von R. Pfeiffer beim spontan erkrankten Meerschweinchen gefundnen Kapselbacillus ähnelt, jedoch in mancher Hinsicht von ihnen verschieden ist. Es wurde von Abel (C. 13. 161) einem genauen Studium unterzogen, der es in sechs untersuchten Ozänafällen jedesmal antraf. Impft man Mäuse mit den Borken selbst, so gehen sie unter Erscheinungen zu Grunde, wie man sie auch nach Einverleibung der aus dem Sekret gezüchteten Kapselkokken wahrnimmt: in der Umgebung der Impfstelle bildet sich ein ziemlich weitgreifendes Infiltrat aus, die Tiere bekommen verklebte Lider und sterben binnen 1—4 Tagen an Septikämie mit reichlichen, nicht immer Kapseln tragenden Bakterien im Blute und in den Organen.

In Ausstrichen der stinkenden Sekretmassen aus der menschlichen Nase gewahrt man neben andern Bakterien unterm Mikroskop plumpe, öfters zu zweien aneinander gelagerte Stäbchen, von einer ziemlich breiten Kapsel umgeben; das Photogramm Taf. IV Nr. 22 zeigt ein solches Präparat eines von mir untersuchten Falles.

Auf Gelatineplatten, die man aus dem Sekret anlegt, wachsen knopfförmige, schleimige, weisse Ansiedlungen, die bei schwacher Vergrösserung im Jugendzustande fein schraffiert, wenn älter, gleichmässig graubraun aussehen und aus kurzen, dicken, unbeweglichen Stäbchen bestehen, die bei Anwendung des Gramschen Verfahrens die Farbe verlieren.

Während die Mäuse in der angegebnen Weise empfänglich sind,

erliegen Meerschweinchen und Ratten der Impfung unter die Haut nicht, wohl aber der Einspritzung der Bakterien in die Brust- oder Bauchhöhle mit örtlicher eitriger Entzündung. Kaninchen und Tauben verhalten sich überhaupt ablehnend.

Dieser „Bacillus mucosus" liefert keine stinkenden Produkte. Der üble Geruch, von dem die Krankheit ihren Namen hat, scheint durch andre Bakterien bedingt zu sein, die sich in der Absondrung der chronisch entzündeten Schleimhaut nachträglich ansiedeln. Abel isolierte und beschrieb deren mehrere.

Als die Veranlassung chronischer eitriger Entzündung der Nasenschleimhaut, die zum Muschelschwund führen und durch das Hinzutreten eines eigenartigen, ursächlich unbekannten Geruches kompliziert werden kann, sieht Paulsen von ihm gefundne Kapselbazillen an, die sich als plumpe, oft leicht gekrümmte, an den Enden abgerundete, ungleich lange Stäbchen darstellen, meist 2—3mal so lang als breit sind und Neigung zur Fadenbildung haben. Sie stehen den Friedländerschen Bakterien ziemlich nahe und unterscheiden sich vom Bac. mucosus durch einige Erscheinungen, die sie bei den empfänglichen weissen Mäusen hervorrufen. Am besten gedeihen sie bei 26°.

Die Milch ist nach Paulsen eine Nährflüssigkeit, worin sich diese, wie alle kapselbildenden Bakterien, nicht nur schnell vermehren, sondern auch im Gegensatze zum Wachstum auf andern künstlichen Nährmitteln mit einer Kapsel, wie im Tierkörper umgeben (Cr. 14. 251).

Ein weiterer Kapselbacillus, der vom Bac. mucosus schon dadurch merklich abweicht, dass er die Farbe nach der Gramschen Behandlung behält, wird bei dem von Hebra mit dem Namen **Rhinosklerom** belegten Leiden gefunden, einem chronischen Uebel mit Bildung von harten, flachen, an der Schleimhaut leicht eiternden Knoten der äussern und innern Nasenteile. Der Schmarotzer liegt innerhalb der hier stets vorkommenden, eigentümlich entarteten, sog. Mikuliczschen Zellen. Zur Darstellung der von Frisch im Jahre 1882 entdeckten Bazillen ist Methylenblau nicht geeignet. Nach Alvarez*) gelingt sie leichter, wenn man die Gewebestückchen vor der Alkoholhärtung mit 1 %iger Osmiumsäure behandelt. Als vorzügliches Färbungsmittel nennt Mibelli das Grenachersche Alaunkarmin (M. f. pr. D. 12. 293). Das trockne (von Grübler-Leipzig bezogne) Präparat wird zu 4 % in heissem Wasser gelöst. In der Lösung verbleiben die möglichst dünnen Schnitte so lange, als notwendig ist, um eine gute Färbung der Kerne zu erhalten, d. h. ungefähr 1 Stunde lang. Dann Wasserspülung, Alkohol, Dammarharzeinschluss. Man kann auch 12—24 Stunden lang färben und dann in salzsauren Alkohol bringen.

Von den ihnen ähnlichen Friedländerschen Bakterien unterscheiden sich die Rhinosklerombazillen ausser bei der Gramschen Methode durch die Eigenschaft, in der Kultur die Kapseln zu behalten, und ferner durch ihre geringe krankheitserregende Wirkung Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen gegenüber.

---

*) Baumgarten, Pathologische Mykologie; Braunschweig bei Bruhn 2. 686.

Seitdem Hartmann (D. 87. 641) ein neues Krankheitsbild unter dem Namen **Rhinitis fibrinosa** festgelegt hat, wurde diese verhältnismässig seltne Affektion der Kinder, bei der ohne Fieber und ohne Störung des Allgemeinbefindens heftiger Schnupfen mit Verstopfung der Nasenhöhle durch Membranbildung auf der starkgeschwollnen Schleimhaut besteht, mit wechselndem Ergebnis bakteriologisch untersucht. Es bleibt unentschieden, inwieweit manche unter dieser Bezeichnung beschriebne Fälle einer chronischen Diphtherie zuzurechnen sind, zumal von verschiednen Seiten Diphtheriebazillen dabei gesehen wurden. Wenn aber bei eingehender Untersuchung nichts von ihnen vorgefunden wird, so muss das gegen die diphtheritische Natur des Uebels sprechen, und das ist wiederholt der Fall gewesen. Weder Starck (B. 92. 1049) noch Abel (C. 12. 841) konnten Anhaltepunkte für eine solche Annahme finden; dieser sprach auf Grund seiner Züchtungsergebnisse die lanzettförmigen Kapselkokken als die Ursache eines beobachteten Falles an (s. a. Eulenstein, D. 93. 862).

Was die Erkrankungen der **Nebenhöhlen** der Nase betrifft, unter denen vornehmlich die Eiteransammlungen das bakteriologische Interesse beanspruchen, so erfolgt ihre Untersuchung in derselben Weise, wie bereits anderwärts beschrieben; die in ihnen zu erwartenden Bakterien sind dieselben, wie bei ähnlichen Zufällen an andern Körperstellen.

Neuere Untersuchungen über Schimmelpilzansiedlungen in der Nase liegen bloss von Schubert vor. In zwei Fällen fand er den Aspergillus fumigatus, in einem spätern einen Fadenpilz, den Cohn als Isaria (Botrytis) Bassiana bestimmte (B. 89. 856).

Auge.

Die bakteriologische Untersuchung des Auges am Lebenden kann sich meist nur auf die äussern Teile, die Hornhaut, Bindehaut, Lider und Thränenwege beschränken. Sie werden, soweit zugänglich, vor der Entnahme einer Probe durch sterilisierten Platindraht, zweckmässigerweise mit sterilisiertem Wasser abgespült, um die oberflächlich sitzenden, aus der Luft und von der Umgebung herrührenden Keime wenigstens einigermassen auszuschalten.

Vom Augeninnern lässt sich bei Operationen Material gewinnen. Das ausfliessende Kammerwasser, ausgeschnittne Stücke der Regenbogenhaut u. dgl. müssen sofort, ohne mit irgend einem andern Teil in Berührung gekommen zu sein, mit sterilisierten Instrumenten gefasst zur Aussaat auf (Glyzerin-)Agarplatten verwendet werden. Wird ein Tierversuch angeschlossen, so ist selbstverständlich das Auge das geeignetste Objekt; meist wird das Kaninchenauge dazu benutzt.

Bei herausgenommenen erkrankten Augäpfeln hat sich die Untersuchung auf alle Abschnitte zu erstrecken bis zum letzten Ende des Sehnervenstumpfes, sowohl mikroskopisch an Schnitten, wie durch die Kultur und unter Heranziehung des Tierversuches, namentlich bei sympathischen Augenentzündungen zur Verfolgung des Wegs, den der An-

steckungstoff nahm. Man ist mehrerseits der Ansicht, dass die Entzündung längs der Nervenbahnen fortziehe (s. Leber F. 6, 460; Deutschmann, Cr. 5. 161; dagegen Schirmer, D. r. 93. 801).

Die Bakterien, die man bei Allgemeinentzündung des Auges fand, waren teils die bekannten gelben und weissen Traubenkokken. die von Leber (Cr. 1. 516) auch in herausgenommenen Stückchen der Regenbogenhaut, sowie im Kammerwasser des sympathisch erkrankten Auges angetroffen wurden, teils beobachtete man nach Verletzungen durch Fremdkörper Stäbchen, die aber von den Autoren (Poplawska, F. 8. 489; Haab, F. 9. 781) zu wenig scharf beschrieben wurden, um in ähnlichen Fällen wieder erkannt werden zu können.

An den Augen Gesunder hat man ausser einer grossen Anzahl nicht krank machender Bakterien wiederholt bekannte Krankheitserreger nachgewiesen, z. B. gelbe Traubenkokken. Von weit grösserer Bedeutung ist der Fund von Diphtheriebazillen.

Nach C. Fränkels Untersuchungen nämlich liessen sich nicht bloss unter pathologischen, sondern auch unter normalen Verhältnissen von der Bindehaut gar nicht selten und durchaus nicht in geringer Zahl Bakterien gewinnen, die sich weder in ihrem Aussehen, noch bei der Züchtung von den echten Diphtheriebazillen auseinanderhalten liessen; die meisten von ihnen waren freilich nicht giftig für die Versuchstiere (Meerschweinchen) und vielleicht identisch mit den zu mancherlei Forschungen über den feinern Bau der Bakterien und gewisse färbbare Anteile benützten „Xerosebazillen", die man irrtümlicherweise früher mit den von Trockenheit begleiteten atrophischen Zuständen des Auges in ursächlichen Zusammenhang gebracht hat. Andre aber waren mit einer Virulenz begabt, wie sie den echten Diphtheriebakterien eigen ist. Dadurch kann im gegebnen Falle die bakteriologische Entscheidung, ob Diphtherie vorliegt oder nicht, ganz wesentlich beeinträchtigt werden, zumal in Anbetracht der Thatsache, dass bei echter Diphtherie einzelne Bazillen vorkommen, die nicht virulent sind. So sind wir denn hinsichtlich der Erkennung einer Diphtherie des Auges durch die bakteriologische Untersuchung noch weit entfernt, einen sichern und eindeutigen Aufschluss erwarten zu dürfen.

Bei dem von Uhthoff (B. 93. 251) untersuchten Kinde mit kroupöser Bindehautentzündung, deren Absonderung als Ausgang für jene Feststellungen C. Fränkels diente, fand sich neben andern Bakterien, wie gelben Trauben-, Kettenkokken, der Diphtheriebazillus in voller Virulenz für das Meerschweinchen- sowohl, wie für das Kaninchenauge, auf dessen Hornhaut durch die Impfung geschwüriger Zerfall mit Durchbruch einerseits und teilweiser Zerstörung der Lidbindehaut andrerseits hervorgerufen wurde. Auf Grund dieser Thatsachen war man vom bakteriologischen Standpunkt aus berechtigt, das Vorhandensein einer Diphtherie anzunehmen; aber der Kliniker konnte, trotzdem in der Stadt gleichzeitig eine Diphtherieepidemie herrschte, bei dem raschen und glatten Heilungsverlauf der leichten Erkrankung eine solche Diagnose — wie aus Uthoffs Mitteilungen ersichtlich — nur mit grösstem Vorbehalt aufnehmen.

Der kroupösen Bindehautentzündung scheint ein einheitlicher Er-

reger nicht zu Grunde zu liegen. Denn Uhthoff fand in einem andern, klinisch sehr ähnlichen Falle die fraglichen Bazillen in den Membranen nicht, und Kain traf bei derselben Konjunktivitis einen sehr feinen Bacillus an. Exsudatmassen und Reinkulturen, die besser auf Agar wie auf Gelatine gediehen, riefen auf der Bindehaut des Kaninchens rasch heilende, eitrige Entzündung hervor, und beim Menschen gelang es in einem von 3 Fällen, ein positives Ergebnis durch Ueberimpfung des Bacillus zu erzielen, der übrigens seiner Virulenz bald verlustig zu gehen schien (Cr. 12. 266).

Als Ursache von Phlyktänen der Bindehaut wurde teils der weisse, teils der gelbe Traubencoccus erkannt. Burchardt konnte durch stichförmige Einimpfung der daraus gewonnenen Kulturen auf der Kaninchenhornhaut eine der menschlichen ähnliche Affektion erzeugen. Die Impfung ging binnen 24 Stunden an und hatte, wenn der Stich tiefer ging, heftige Entzündung der Hornhaut und der Regenbogenhaut zur Folge (B. 90. 976).

Bei Blepharadenitis fand Widmark den gelben Traubencoccus (J. 4. 31).

Aus dem Infiltrate eines Falls von Keratomalacie gewann Loeb einen dem R. Pfeifferschen ähnlichen Kapselbacillus, der frisch gezüchtet, grauen oder weissen Mäusen unter die Haut gebracht, binnen 3—4 Tagen tödlichen Ausgang unter septischen Erscheinungen bewirkte, bei Meerschweinchen aber weniger infektiöse, als toxische Eigenschaften entfaltete (C. 10. 369).

Die Untersuchungen bei Trachom haben zu einem richtigen positiven Ergebnis noch nicht geführt. Die Entstehung dieser Krankheit ist noch dunkel.

Um so sichrere Kenntnisse besitzen wir über die Ursache der Augenblennorrhoe. Sie wird zweifellos durch den Gonococcus hervorgerufen, der sich im gefärbten Präparate durch die intracellulare Lagerung der Haufen semmelförmiger Diplokokken zu erkennen gibt. Näheres über ihn und seine Züchtung s. später.

Hinsichtlich des Nachweises der Tuberkelbazillen, die sich im Innern, wie in der Umgebung des Auges einnisten können, gelten die bereits aufgeführten Grundsätze (s. a. S. 368). Zum Tierversuch wählt man, wenn nicht gleichzeitig Eitererreger im Impfmaterial vorhanden sind, die vordre Augenkammer des Kaninchens.

Das Chalazion, dessen tuberkulöse Natur mehrfach behauptet wurde (Arlt, Tangl) — eine Ansicht, die Deutschmann (Mr. 93. 715) widerlegte — soll nach Deyl durch einen in seiner Gestalt sehr wechselnden, am besten auf Blutserum, auch auf Blut- und Glyzerinagar gedeihenden Bacillus bedingt sein, dessen Reinkulturen ähnliche Geschwülste bei Tieren hervorriefen (Cr. 14. 404).

Mund.

Die Mundhöhle ist eine Ansiedlungsstätte für eine ausserordentlich grosse Anzahl von Schmarotzern, von Fäulnis- und Gärungserregern aus der Luft, aus den eingeführten Speisen u. s. w., und fast regelmässig finden sich darunter Bakterien mit krankheitserregenden Eigenschaften dem Versuchstiere gegenüber, die sich von gewissen, bei Krankheiten des Menschen beobachteten durchaus nicht unterscheiden lassen. Der lanzettförmige Kapselcoccus, der Diphtheriebacillus z. B. werden bei Gesunden angetroffen, ohne dass ihr Träger augenblicklich oder überhaupt von ihnen befallen würde. Häufige Ansiedler in der Mundhöhle Gesunder und Kranker sind die Kettenkokken in ihren beiden Hauptgattungen, dem bald wenig, bald mehr virulenten Streptococcus longus und dem Str. brevis (von Dörnberger bei Kindern näher untersucht; Jahrb. f. Kinderheilk. 35. 395).

Der Nachweis solcher und andrer Kleinwesen lässt sich entweder durch direkte Ueberimpfung der Sekrete oder Belage der Mundhöhle auf Tiere erbringen, oder durch die Plattenkultur oder durch die mikroskopische Untersuchung. Auf diese sind wir bei einer Reihe von Arten überhaupt angewiesen, da es viele darunter gibt, die weder fürs Versuchstier pathogen sind, noch auf unsern gebräuchlichen Nährboden angehen.

Miller, der sich am meisten von allen der Erforschung der Flora des Mundes widmete, unterscheidet eine Anzahl von Bakterien durch ihr Verhalten gegenüber einer mit Milchsäure schwach angesäuerten Jodjodkaliumlösung. Bringt man, so führt er aus, eine geringe Menge des weissen Zahnbelags in einen Tropfen einer derartigen Lösung, so findet man, dass ein Teil der Mikrokokkenhaufen und die stab- und fadenförmigen Gebilde eine sehr schwache gelbliche bis gelbe Farbe angenommen haben, darunter auch die unregelmässigen, vorspringenden Fäden, die der Leptothrix innominata angehören, eine Bezeichnung Millers für ungegliederte, fadenartige Mikroorganismen, die vermischt mit verschiednen Stäbchen- und Kokkenformen im weissen, weichen Zahnbelage regelmässig vorkommen. Er schied damit eine bestimmte Art von Kleinwesen aus, die man sonst mit andern zusammen Leptothrix buccalis nannte.

In den meisten Fällen findet man gleichzeitig neben jenen durch angesäuerte Jodjodkaliumlösung gelb gefärbten Zellen entweder zerstreut liegend oder in kleinen Haufen oder Rasen auftretend, Ketten von Kokken und von dicken Bazillen, die eine deutlich blau-violette Färbung bekommen haben; diese beiden Arten nannte Miller: Jodococcus vaginatus und Bacillus maximus buccalis.

Seit langem sind als Bewohner der Mundhöhle gekrümmte Bakterien bekannt, Spirillen und Spirochäten, deren welche von Lewis einmal mit Choleravibrionen indentifiziert wurden, ein Irrtum, der sich schon durch die Unzüchtbarkeit dieser Bakterien aufklären liess. Später hat Miller einen wahrscheinlich mit dem Vibrio proteus (Prior-Finkler) gleichen Vibrio isoliert, sowie ein auf Gelatine ausserordentlich langsam wachsendes, halbkreisförmiges Stäbchen, seinen „ε-Bacillus“. Von

nicht züchtbaren, ähnlich aussehenden Arten begegnet man u. a. dem Spirillum sputigenum in enormen Mengen in vernachlässigten Mundhöhlen, wenn man etwas von dem schmutzigen Belage des geröteten Zahnfleischrandes unters Mikroskop bringt, und der Spirochäta dentium, die sich gleichfalls unter dem Zahnfleischrande findet, wo er schmutzig belegt und leicht entzündet ist, also bei Gingivitis marginalis. Man sieht hier dickere und dünnere, die Farbstoffe ungleich aufnehmende Fäden, vielleicht zwei verschiedne Arten. Wie alle Spirillen und Spirochäten werden auch diese am besten mit Fuchsin gefärbt. Lässt man Karbolfuchsin unverdünnt ½—1 Minute einwirken, so sieht man unter dem Mikroskope die Spirille nicht mehr als zusammenhängendes Ganze, sondern aus kleinsten, stark gefärbten Pünktchen mit zwischenliegenden hellen Stellen, perlschnurartig aufgereiht bestehend.

Wer sich nähere Kenntnisse von den Mundbakterien verschaffen oder Untersuchungen über sie anstellen will, braucht das Werk Millers: Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Die örtlichen und allgemeinen Erkrankungen, die durch dieselben hervorgerufen werden. Leipzig bei Thieme. 2. Aufl. Ferner verweise ich auf Miller: Der Mund als Infektionsherd Cr. 12. 380, wo sich eine Aufzählung der mancherlei krankheitserregenden Bakterien der Mundhöhle findet; ausserdem auf die Werke und Untersuchungen von David Cr. 10. 609; Sanarelli C. 10. 817; Pobielsky Cr. 9. 617 und C. 10. 605.

Zur Züchtung der Bakterien fand Miller Fleischwasserpeptonagar mit 0,5—1 % Zucker am geeignetsten. Es wäre hier, wie überhaupt gut, wenn die Autoren nähere Angaben über den für die besondern Untersuchungen gewählten Alkaleszenzgrad Angaben machen würden. Die Entnahme kann aus dem gemischten Speichel, oder aus dem Zahnbelag, aus kariösen Zähnen, von gangränösen Pulpen, von Zahngeschwüren, vom Zungenrücken u. dgl. erfolgen. Bei der Untersuchung des **Zahngewebes** müssen die nachstehenden Vorsichtsmassregeln beobachtet werden.

Gewinnung von Reinkulturen von den Bakterien der Zahnkaries.

1. Aus den äussern Schichten des kariösen Zahnbeins: Mit einem Strome sterilisierten Wassers, allenfalls unter Zuhilfenahme einer sterilisierten Bürste werden alle Speiseteile aus der Höhle beseitigt und mit einem sterilisierten Löffelexcavator etwas von der Oberfläche des kariösen Zahnbeins zur Aussaat heruntergeschabt.

2. Aus den mittlern Schichten des kariösen Zahnbeins: Der Zahn wird zuerst gereinigt oder in 5%iger Karbolsäurelösung abgebürstet, dann auf etwa 5 Minuten in eine konzentrierte Lösung von Karbolsäure gelegt. Die Höhle wird dann mit sterilem Fliesspapier abgetupft, die oberflächlich von der Karbolsäure getrennte dünne Schicht abgehoben, und von der darunter liegenden mittlern Schicht ein Stückchen mit einem scharfen, spitzen Instrumente herausgehoben und als Ausgangsmaterial verwertet.

3. Aus den tiefsten Schichten des kariösen Zahnbeins: Der Zahn bleibt diesmal 15—30 Minuten in der Karbolsäurelösung liegen,

dann wird mit einem sterilen löffelförmigen Excavator die Hauptmasse des kariösen Gewebes herausgehoben, bis man dicht an die Grenze des gesunden Zahnbeins gekommen ist, und dann erst das Aussaatmaterial herausgeholt. Das herausgehobne Stückchen wird in dem Kulturmittel etwas gedrückt, um die in den Zahnbeinkanälchen sitzenden Bakterien frei zu machen.

Für alle Fälle wähle man Zähne mit gesunder oder wenigstens mit noch bedeckter Pulpa, damit das zu untersuchende Material nicht von einer putriden Zahnpulpa aus verunreinigt werden kann.

Gewinnung von Reinkulturen aus kranken oder putriden Zahnpulpen.

Man legt den abgebürsteten Zahn auf etwa 1/4 Stunde in konzentrierte Karbolsäure. (Wo jedoch ein weit offnes Foramen apicale vorhanden ist, wird dieses vorher mit Karbolsäure abgetupft und mit sterilem Wachs verschlossen, damit die Karbollösung nicht in den Wurzelkanal eindringen kann.) Dann kommt der Zahn in absoluten Alkohol, aus dem er mit steriler Pinzette herausgeholt, dann in eine Flamme gehalten wird, um den Alkohol zu verbrennen. (Vorsicht, dass der Zahn nicht zu heiss wird!) Nun wird er mit einer Zange gespalten und etwas von der putriden oder entzündeten Pulpa als Aussaatmaterial benutzt. Mit ein wenig Uebung ist man imstande, auf diese Weise Material zu bekommen, wobei jede Verunreinigung von aussen her mit Sicherheit ausgeschlossen ist.

Man suche sich einen Zahn mit bedeckter Pulpa aus, oder, falls diese frei gelegen hat, nimmt man das Material nicht aus der Pulpakammer, sondern aus dem Wurzelkanal, wo eine Verunreinigung durch Speiseteilchen noch nicht stattgefunden hat.

Die Untersuchung der Zähne hat eine besondre Wichtigkeit bei der **Strahlenpilz**-Erkrankung, die von hier aus ihren Ausgang nehmen kann. Sehr oft ist es beim Tier der Fall, beim Menschen wurde dieser Weg der Ansteckung in Abrede gestellt. Jetzt ist er von Partsch (W. klin. W. 93. 97) unzweifelhaft erwiesen. In dem betreffenden Falle bestand ein Abscess am rechten Unterkiefer und Karies des 2. Back- und 1. Mahlzahns. Der Eiter enthielt Aktinomycesdrusen (um sie darin unverändert nachzuweisen empfahl Partsch den Eiter durch Alkohol zu fällen, zu härten und in Celloidin einzubetten). Einer der ausgezognen Zähne, in Schnitte zerlegt, enthielt in seiner Wurzel zwei Drusen. Ausser der Möglichkeit der Einwandrung des Aktinomyces durch den Zahn ist dadurch die Notwendigkeit der Extraktion zur Verhütung von Rückfällen bewiesen.

Karg und Schmorl beobachteten im Eiter eines Unterkieferabscesses, der sich infolge von Periostitis in der Umgebung eines kranken Mahlzahns entwickelt hatte, zahlreiche stecknadelkopfgrosse, schwefelgelbe Körnchen, wie bei Aktinomykose. In einem solchen zerquetschten Körnchen war ausser Eiterkörperchen ein dichtes Netzwerk untereinander verflochtner, verschieden langer Fäden mit deutlich di-

chotomer Verzweigung zu erkennen. Diese Cladothrix findet sich in dem vortrefflichen Atlas der pathologischen Gewebelehre von Karg und Schmorl in mikrophotographischer Darstellung (Tafel 17; Fig. 7. Leipzig bei F. C. W. Vogel 1893).

Amöben sah Flexner im Eiter eines Kieferabscesses unter zahlreichen Bakterien. Sie waren grösser, als die Blutkörperchen (Cr. 14. 288).

Bei **Skorbut** hat Babes Stückchen aus dem prall geschwollnen oder schwammig aufgelockerten Zahnfleisch herausgeschnitten und zur mikroskopischen Untersuchung, zur Kultur und zum Tierversuch verwendet.

In Schnitten folgte auf die oberflächliche, meist Streptokokken haltende Schicht eine breite Zone dicht verfilzter Bazillen, die lang und äusserst fein, an den Enden spitz und wellig gebogen waren. Sie liessen sich mit basisch Blau gut, weniger mit Rubin, gar nicht nach Gram zur Darstellung bringen. Die Züchtung gelang nur bei Anwesenheit von Streptokokken oder ihrer (durch Sterilisierung der Kultur erhaltner) Stoffwechselprodukte auf Nähragar bei Körperwärme.

Zum Tierversuch wurden die Zahnfleischstückchen mit sterilisiertem Wasser mehrmals abgewaschen, oberflächlich sterilisiert, im sterilen Mörser verrieben und in Bouillon aufgeschwemmt, Kaninchen unter die Haut oder in die Blutbahn eingespritzt, worauf einige von ihnen mit hämorrhagischen Erscheinungen der Haut und der serösen Häute, der Leber, der Darmhaut und der Muskeln starben. In den Leichen fand sich aber ausser den genannten Bakterien noch ein ähnliches Stäbchen wie sonst bei Kaninchenseptikämie. Einspritzungen von Reinkulturen hatten ebenfalls Hämorrhagien zur Folge, aber es mussten bis zu 10 g Bouillonkultur einverleibt werden, am besten hungernden Hunden oder Kaninchen zusammen mit den Streptokokken. In den an den Impfstellen entstehenden, von hämorrhagischem Oedem umgebnen Abscessen waren die fraglichen Bazillen ebensowenig, wie im Körper aufzufinden. Auch Uebertragungen von Blut und Urin infizierter Tiere auf gesunde blieben erfolglos (D. 93. 1035). Es scheint sich also mehr um eine Vergiftung, als um eine Infektion gehandelt zu haben.

Stomatitis aphthosa wird nach E. Fraenkel wahrscheinlich durch Staphylokokken bedingt, von denen er den St. pyog. citreus und albus dabei fand (V. 113, 484); Barnabei begegnete den Friedländerschen Kapselbakterien. Bei Stomatitis ulcerosa isolierte Frohwald stinkende, gasentwickelnde Bazillen, und Sevestre und Gaston bei einer ähnlichen, von ihnen Stomatitis impetiginosa genannten Affektion, aus den weissen, diphtherieähnlichen Plaques die gelben Traubenkokken (Mr. 91. 485). Die von der aphthösen Mundschleimhautentzündung verschiednen, sog. Bednarschen Aphthen der Kinder, bei denen E. Fraenkel keine regelmässigen Befunde, bald Trauben-, bald Kettenkokken, bald Soorpilze bekam, scheinen überhaupt nicht auf Ansteckung zu beruhen. Neumann konnte sie auf die mechanische Reinigung des Mundes durch Auswischen zurückführen (B. 92. 503).

Blasenbildungen, wie an verschiednen Stellen des Körpers,

so im Munde, hat man unter Verhältnissen beobachtet, die auf eine Uebertragung des Ansteckungstoffes der **Maul- und Klauenseuche** schliessen liessen (Siegel D. 91. 1328; Boas D. Med. Ztg. 93. 536). Die am häufigsten angenommene Ansteckung durch die Milch kranker Tiere konnte selbstverständlich nicht mit zweifelloser Sicherheit bewiesen werden, da der Erreger der fraglichen Krankheit noch unbekannt ist. Bezeichnend aber ist die Beobachtung Schlatters (J. 7. 125) von Blasenbildung am Körper und im Munde mit üblem Geruch, Rötung der Schleimhaut und Schluckbeschwerden bei einem Metzger, der wenige Tage zuvor ein mit Maul- und Klauenseuche behaftetes Kalb geschlachtet hatte, umsomehr als die mikroskopische und kulturelle Untersuchung keine Kleinwesen erkennen liess.

Für den Zusammenhang von Maul- und Klauenseuche der Rinder und einer epidemisch auftretenden, nicht selten mit hochgradiger Zungenentzündung einhergehenden Mundseuche der Menschen sprechen die Ergebnisse von Siegel, der als Erreger beider Krankheiten einen kleinen, eigentümlich geformten, sporentragenden Bacillus fand, und durch Impfversuche an Rindern die Gleichheit der beidemal gefundnen Bakterien bestätigen konnte. Bei einem Falle von Zungenentzündung mit tödlichem Ausgange waren dieselben Bakterien in Abstrichen von Schnittflächen der Leber und Niere nach Färbung mit Karbolfuchsin nachweisbar (Rose; Siegel; D. 93. 1280; Boas D. 93. 972).

Kurth bekam in seinen Untersuchungen über Maul- und Klauenseuche der Rinder einen sonst nicht gesehenen, mit einer stark lichtbrechenden, noch färbbaren Hülle umgebnen Kettencoccus, den er deshalb mit dem Namen Streptococcus involutus belegte. Die Uebertragung der Reinkulturen auf Tiere blieb jedoch erfolglos (K. A. 8. 439).

Eine gonorrhoische Mundentzündung, die vorzukommen scheint, müsste durch den einwandfreien Nachweis von Gonokokken sicher gestellt werden.

Die bei den Säuglingen so häufige **Soor**-Erkrankung lässt sich als durch einen bestimmten, S. 281 erwähnten Pilz bedingt, mit dem Plattenverfahren feststellen. Der Soorpilz scheint die Fähigkeit zu besitzen, weiter in den Körper einzudringen. M. B. Schmidt hat ihn in die tiefern Gewebe der Rachen- und Speiseröhrenwand, sowie in die Luftwege vorgedrungen gesehen (Cr. 8. 406), und Schmorl (C. 7. 329) fand bei einem an Typhus Verstorbnen neben ausgedehnter diphtheritischer Verschorfung im Mund, Rachen und Oesophagus Wucherungen des Soorpilzes, der sich selbst in der Niere und der Milz mikroskopisch, wie kulturell nachweisen liess.

Als die Ursache eines dunkelbraunen, ins Schwarze spielenden Flecks auf der Oberfläche der Zunge, der sog. schwarzen Zunge, isolierten Ciaglinski und Hewelke einen für Kaninchen nicht pathogenen, erst weiss wachsenden, dann aber schwarz werdenden Schimmelpilz, der bei Körperwärme nicht gedieh und als Mucor niger bezeichnet wurde (Cr. 14. 209).

Von der Mundhöhle aus dringen nicht selten Bakterien durch den Stenonianischen Gang in die **Ohrenspeicheldrüse.** Kurz nach Ablauf einer Lungenentzündung sah u. a. Duplay (D. 91. 1208) eine einseitige Parotitis entstehen und fand im Speicheldrüsensekret der erkrankten Seite, sowie in der incidierten Drüse die lanzettförmigen Kapselkokken. Bei eitriger Parotitis (auch nach Typhus) liessen sich die bekannten Eitererreger finden. Jedoch bleibt der Einwand bestehen, dass die Bakterien auf dem Umwege durch das Blut in die Drüse gekommen seien und dort Sitz gefasst hätten, wie er z. B. möglich ist, wenn sich nach Ablauf des Typhus die Typhusbazillen in der entzündeten Drüse zeigen. Strahlenpilzerkrankungen aber, die an der Ohrenspeicheldrüse beobachtet wurden, stammen ziemlich sicher von der Mundhöhle her.

Die Ursache des Mumps harrt noch der Entdeckung. Einen Diplococcus, den Laveran in vielen Fällen gelegentlich einer Parotitisepidemie der Pariser Garnison immer wieder fand, nahm der Autor selbst nicht als Erreger an, weil Impfversuche negativ ausfielen (Cr. 14. 185).

Die Untersuchung von Belagen der Mandeln und ihrer Nachbarschaft

ist für die Erkennung der **Diphtherie** einerseits und der einfachen **Mandelentzündung** andrerseits von grosser Wichtigkeit.

Wir brauchen dazu folgende Gegenstände:

Einige mit Watte verschlossne, sterilisierte Reagensröhrchen.

Eine Spirituslampe; Platindraht und Platinöse.

Einen Zungenspatel; statt dessen kann ein Löffel oder ein Stück glatt geschabten Holzes dienen; gehört der Löffel dem Kranken, so soll er nur mit Watte angefasst werden. Nach Gebrauch dürfen derlei Instrumente nicht auf den Tisch gelegt werden, sondern müssen direkt in Karbollösung od. dgl. mechanisch gereinigt werden, da Auskochen selten möglich. Holzspatel werden im Ofen verbrannt.

Fig. 122.



Ein Glas mit etwa 100 ccm 1%iger Sodalösung.

Eine etwa 20—23 cm lange Pinzette. Sie muss kurz vorher sterilisiert sein. Am besten geschieht das, wenn man sie in ein Reagensglas steckt, worin sich etwa 10 ccm der 1%igen Sodalösung befinden. Während man das Reagensglas in einem Halter oder mit einem am Rande umgeschlungnen und zusammengedrehten Papierstreifen hält, erhitzt man über der Flamme bis zum Sieden (Fig. 122).

Nach der Herausnahme kann man die Pinzette durch mässige Erwärmung leicht trocknen.

Dann folgt die Entnahme:

Man lässt den Kranken so aufsitzen, dass das Licht in den weit geöffneten Mund fällt, und ermahnt ihn (zur Vermeidung von Hustenstössen), recht tief zu atmen, drückt die Zunge mit dem Spatel nieder, fasst die Membran mit der Pinzette und zieht ein Stückchen davon heraus. Dieses nimmt man von der Pinzette mit dem erwärmten Platindraht oder mit der Oese ab und legt es an der Innenwand eines sterilisierten Reagensglases nieder. Der Platindraht wird dann abgeglüht, die Pinzette wieder in die 1%ige Sodalösung gesteckt und gekocht. Ist auch der Zungenspatel regelrecht desinfiziert, so begibt man sich alsbald ins Laboratorium.

Hier wird sofort die Aussaat des Membranstückchens vorgenommen. Ein oder zwei Doppelschälchen mit Glyzerinagar*) begossen, sind schon vorbereitet. Man berührt das Membranstückchen mit einer noch warmen Platinöse, nimmt die Kulturschale umgekehrt (mit dem Boden nach oben) in die linke Hand und streicht mit der Membran in mehrfachen Windungen über die Oberfläche, ohne zu fest anzudrücken oder in den Nährboden einzureissen, und legt die Schale wieder auf ihren Deckel.

Dann berührt man mit demselben Membranstückchen an mehreren (2—3) Stellen einen Objektträger und gewinnt so Ausstrichpräparate zur Färbung und zur mikroskopischen Untersuchung.

Schliesslich wird das Stückchen wieder ins sterilisierte Reagensglas zurückgebracht, um es zu spätern Untersuchungen, die man vielleicht anstellen will, vorrätig zu haben; jedes Gefäss versieht man mit der entsprechenden Aufschrift.

Die Schalen mit dem besäten Glyzerinagar werden mit dem Deckel nach unten unter eine Glasglocke (Becherglas) in den Brutschrank**) gestellt.

Um die dem Membranstückchen von der Mundhöhle her äusserlich anhaftenden Keime von Fäulniserregern u. dgl. möglichst zu befreien, kann man sie vor der Aussaat auf Agar in mehreren Schälchen mit sterilisiertem und erkaltetem Wasser, oder noch einfacher in mehreren stets vorrätigen Gläschen mit Nährbouillon der Reihe nach abspülen. Man braucht diese Bouillon dann nur einigemale aufzukochen oder auf 20 Minuten in den Dampf zu stellen, um sie wieder zu Züchtungszwecken benützen zu können.

Es lassen sich auch noch verwertbare Ergebnisse mit Membranstückchen erhalten, die schon vor längrer Zeit von der erkrankten Stelle entnommen worden waren, was für Sendung verdächtigen Materials von praktischen Aerzten an Institute von Belang ist; nur darf das Häutchen nicht feucht, etwa in Wasser oder gar in

*) Schloffer empfiehlt Harnagar aus 2 Teilen Nähragar und 1 Teil bei 70—80° sterilisiertem Harn C. 14. 657.

**) Für klinische Institute hat Baginsky eigens zu diesem Zweck durch F. & M. Lautenschläger-Berlin einen kleinen Brutofen herstellen lassen (B. 92. 185).

Karbol oder Alkohol gelegt sein, sondern es soll lediglich in einem trocknen Gläschen verschickt werden. Freilich werden während des Transportes die Fäulniserreger, überhaupt solche Bakterien, die bei gewöhnlicher Temperatur wachsen können, gegenüber den etwa vorhandnen, zu ihrer Vermehrung mindestens 24° bedürfenden Diphtheriebazillen, die Oberhand gewinnen. Aber Diphtheriebazillen lassen sich durch das Züchtungsverfahren immer noch nachweisen, zumal wenn man die Membran über mehrere Schalen mit Glyzerinagar hintereinander ausstreicht. Wie zählebig sie sind, das zeigte Löffler (B. 90. 887): Aus kleinsten Membranstückchen, die in Uhrgläsern angetrocknet waren, wuchsen noch nach 4 Wochen die Bazillen in grossen Massen; einmal ging sogar eine Reinkultur auf, weil die andern, in der Membran vorhanden gewesnen Bakterien bereits abgestorben waren. Nach 8 Wochen erst kamen weniger zahlreiche Kolonien zur Entwicklung, nach 9 Wochen nur vereinzelte. Aus dickern Membranstückchen wuchsen dagegen nach 6—10 Wochen noch sehr zahlreiche Kolonien und erst nach 13—14 Wochen hatte die Zahl der entwicklungsfähigen Keime so weit abgenommen, dass nur noch vereinzelte Ansiedlungen sichtbar wurden. Nach 16wöchentlicher Eintrocknung blieb die Auskeimung von Diphtheriebazillen aus; nur eine Streptokokkenart ging in einem Falle noch an, die sich durch gewisse Eigentümlichkeiten und durch ihre Widerstandsfähigkeit von andern Kettenkokken unterschied (vgl. auch Abel C. 14. 756).

Bei der Untersuchung der mit basisch Blau oder verdünnter Karbolfuchsinlösung (1 + 2 Wasser) gefärbten Ausstriche unterm Mikroskop finden sich verschiedne Arten, Kokken und Stäbchen. Sind die Stäbchen öfters leicht gekrümmt oder an den abgerundeten Enden etwas aufgetrieben, zu zweien biskuitförmig aneinander gelagert, nehmen sie mitunter auch den Farbstoff nicht in allen Teilen gleichmässig auf, und befinden sie sich gegenüber den andern Bakterien an Zahl in der Ueberhand — sie brauchen dabei gar nicht, wie es auch vorkommt (Baginsky, B. 92. 183), in Haufen zu liegen, schon vereinzelte Stäbchen im Gesichtsfeld genügen: so legt das den Verdacht auf Diphtherie näher; eine Entscheidung aber lässt sich aus dem mikroskopischen Befunde nicht gewinnen (Photogr. Taf. VI Nr. 32).

Sie ist allein durch die Untersuchung der besäten Glyzerinagar-Platten und zwar bereits nach 24 und weniger Stunden ermöglicht.

Sieht man nichts als dicke gelbe oder weisse schleimige, unter dem Mikroskop mit schwachem Trockensystem mehr gleichmässig durch das Gesichtsfeld ziehende Rasen, die sich im gefärbten Präparat mit der Oelimmersion untersucht, als Kokken (meist Staph. pyog. aureus oder albus) erweisen, ferner die kaum je fehlenden, oft das Bild beherrschenden, feinen maschenförmigen Streptokokkenkolonien (s. Photogr. Taf. I Nr. 5), so lässt sich eine vermutete Diphtherie beim Kranken mit Wahrscheinlichkeit ausschliessen. Es ist dies das gewöhnliche Bild bei Aussaaten von Stückchen des Belags bei follikulärer Angina oder bei Scharlachdiphtherie.

Finden sich aber bei schwacher Vergrösserung kleine, graugelblichbraune Kolonien mit einer zentral oder exzentrisch gelegnen, braunen,

unregelmässig begrenzten Erhabenheit, die hügelartig abfallend in eine durchsichtigere Zone übergeht und sich nach dem leicht welligen Rande zu in ein eigentümlich gekörntes, chagriniert aussehendes Gefüge auflöst (Photogr. Taf. VI Nr. 33): dann haben wir die bezeichnenden Ansiedlungen der Diphtheriebazillen vor uns.

Wir müssen uns aber noch durch die Untersuchung mit der Oelimmersion Gewissheit verschaffen. Bevor wir das thun, impfen wir erst eine oder mehrere der verdächtigen Ansiedlungen auf ein frisches Schälchen mit Glyzerinagar ab. Dann legen wir mit einer weiter abgeimpften Kolonie ein Objektträgerpräparat an und machen überdies von einer andern, mit den diphtherieverdächtigen Kolonien besetzten Stelle einen Abklatsch auf ein Deckgläschen. Wenn die Präparate lufttrocken geworden und durch die Flamme gezogen sind, färben wir sie mit verdünntem Karbolfuchsin. Unter der Oelimmersion fahnden wir dann zunächst nach Stäbchen. Im Klatschpräparate wechseln Bezirke von Kettenkokken und von grossen und kleinen haufenförmig liegenden Kokken ab, dazwischen trifft man dann auf Bezirke, die nur Stäbchen enthalten. Die Diphtheriebazillen sind an ihrer eigentümlichen Form und unregelmässigen Lagerung zu erkennen. 1 Tag auf Glyzerinagar gewachsne Diphtheriebazillen haben meistens ein dickes angeschwollnes und ein dünnes zugespitztes Ende, sie sehen keulenförmig aus, oder wie ein Strichpunkt, wenn unterhalb des dickern Endes eine weniger gefärbte Stelle liegt, wie sie bei Diphtheriebazillen öfters vorkommt. Mitunter sieht man drei, vier und mehr solcher kleinster Keulen einzeln nebeneinander oder paarweise angeordnet; die zwei Stäbchen stehen dann entweder im Winkel gegeneinander oder bilden eine gerade Linie, wenden einander aber gewöhnlich das dicke Ende zu. Einige Stäbchen erscheinen kürzer, andre länger; dann macht sich an ihnen wohl auch eine Krümmung und an irgend einem Punkte eine weniger gut gefärbte Stelle bemerklich; Auftreibungen finden sich entweder am Ende oder in ihrem Verlaufe (Photogr. Taf. VI Nr. 34).

Der auf Grund solcher Befunde erbrachte Entscheid über verdächtige Belage hat sich noch immer bewährt. Deutsche Kliniker von Namen wie Baginsky, die französischen Gelehrten Roux und Yersin und verschiedne andre haben diese Untersuchungen stets mit Erfolg ausgeführt. Wenn auch die echten und die falschen, die sog. Pseudo-Diphtheriebazillen, ohne Vorhandensein der Diphtherie, ja im gesunden Mund- und Rachenhöhlensekret gefunden wurden (v. Hofmann W. 88 Nr. 3; Escherich B. 93. 492), so imponierten sie doch nicht durch die Menge, wie wir sie in der Aussaat von diphtheritischen Belägen angehen sehen.

So lässt sich also die Diagnose binnen 12—24 Stunden stellen. Das ist auch wichtig für die weitere Isolierung der Kranken.

Das für die Diphtheriebazillen geeignetste Nährmittel ist Traubenzuckerbouillonserum (S. 93), wie es Löffler bereits bei seinen ersten Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Entstehung der Diphtherie beim Menschen, bei der Taube und beim Kalbe (K. M. 2. 421) angab und verwendete. Es ist nur wegen der bequemern Herstellung und der leichtern Verarbeitung des Gly-

zerinagars zu Platten von diesem verdrängt worden. Bei Verwendung von Blutserum zu Platten wäre statt der Bouillon Nähragar kurz vorm Ausgiessen mit dem flüssigen, sterilisierten Blutserum zu mischen. Früher impfte man bloss auf schräg erstarrte Nährboden und strich die Membran auf 6—8 Röhrchen hintereinander aus, um im letzten die Keime möglichst dünn gesät zu bekommen. Dabei ist aber der Verbrauch an Nährmaterial ein zu grosser, namentlich zu Zeiten, wo sich die Untersuchungen häufen, ganz abgesehen von der Unvollkommenheit, die diesem Verfahren dadurch anhaftet, dass die mikroskopische Besichtigung der Reagensglaskulturen mit dem schwachen System erschwert und überhaupt nur in ganz beschränktem Masse möglich ist.

Gewöhnlicher Nähragar ist zur Züchtung der Diphtheriebazillen viel weniger geeignet und von Nährgelatine ist ganz abzusehen, weil die Möglichkeit des Wachstums bei den Wärmegraden eben beginnt, wo die Gelatine weich wird.

Häufiger werden Bouillonkulturen angelegt, namentlich wenn man eine Uebertragung auf Versuchstiere machen will. Die nicht mit Eigenbewegung begabten Diphtheriebazillen lassen die Flüssigkeit klar und bilden einen gelblichweissen, krümligen Bodensatz. Mitunter wird jedoch auch eine Trübung der Bouillon beobachtet. Eine bezeichnende Eigenschaft der Diphtheriebazillen ist es, dass sie das Nährmittel anfänglich sauer machen; nach einiger Zeit kehrt jedoch die alkalische Reaktion der Kulturflüssigkeit wieder zurück, wie Roux und Yersin (P. 3. 273) durch Zusatz von Lakmustinktur ermittelten.

Wenn auch die spontan vorkommende Diphtherie der Tauben und des Kalbes nach Löfflers Untersuchungen mit der menschlichen Krankheit ursächlich nichts gemein hat, so gelingt es doch, Tauben und andre Tiere mit den Erregern der menschlichen Diphtherie krank zu machen. Sehr pathogen erweisen sich diese gegenüber Meerschweinchen (s. S. 251), Hunden, auch jungen Kaninchen, leider nicht oder nur sehr wenig für Mäuse. Gleichviel, wo man sie einverleibt, sie gelangen zur Wirkung, selbst wenn die Verletzung nur eine leichte ist, wie sie z. B. durch die einfache Auseinanderziehung der Scheide weiblicher Meerschweinchen in Gestalt oberflächlichen Epithelverlusts gesetzt wird (Löffler). Man kann nicht bloss nekrotisierende Schleimhautentzündung der Vagina erzeugen, sondern auch dicke Auflagerungen auf der Augenbindehaut, echte Diphtherie in der Luftröhre, kroupöse Membranen auf der Rachenschleimhaut, und, was besonders wichtig, charakteristische Lähmungen und Koordinationsstörungen mit tödlichem Ausgang, oft, nachdem zwischen ihrem Auftreten und den Anfangserscheinungen eine Zeit scheinbarer Genesung gelegen ist, so dass man, wie Brieger und C. Fraenkel sagen, auf das Verhalten der Diphtherie beim Menschen geradezu mit Fingern hingewiesen wird.

Freilich ist diese Wirkung nicht immer den Diphtheriebazillen eigen und nicht allen in gleich hohem Grade. Darum bringt auch der Tierversuch für die Diagnose hier keine endgültige Entscheidung, umsomehr, als sich auch unter normalen Verhältnissen Bazillen finden lassen, die sich in der Virulenz nicht von vollvirulenten Diphtheriebazillen unterscheiden lassen. Deren ursächliche Bedeutung wird dadurch nicht erschüttert; denn, dass die Krankheit durch die in Rede

stehenden Bakterien bedingt wird, ist nicht allein durch ihr regelmässiges Vorkommen sicher gestellt, sondern wird auch durch die Thatsache bewiesen, dass sich die Diphtherie durch Blutserum von Tieren heilen lässt, die mit jenen Bakterien und mit dem von ihnen erzeugten Gifte vorbehandelt und bis zu einem hohen Grad von „Giftfestigkeit" gebracht wurden (S. 252).

Die Diphtheriebazillen rufen die ernsten Zufälle so gut wie ausschliesslich durch die von ihnen an der Eintrittstelle gebildeten Giftstoffe hervor. Zumeist finden sie sich nur an dieser und sonst nirgends im Körper. Das trifft mit noch grösserer Regelmässigkeit beim Versuchstier, wie beim Menschen zu, wo man sie wiederholt schon in den Organen der Verstorbnen ziemlich gleichmässig verbreitet angetroffen hat, allerdings meist mit Strepto- und Staphylokokken vergesellschaftet (Behring; Frosch, Z. 13. 49).

Membranen des Rachens, der Nase, des Kehlkopfs und der tiefern Luftwege werden in der gleichen Weise wie die Mandelbelage untersucht. Will man zur Vervollständigung noch Schnitte aus den kroupösen Häuten anfertigen, so gelingt der Nachweis von Diphtheriebazillen durch die Färbung nach einer der früher genannten einfachen Methoden (nicht aber nach der Gramschen), wenn der Krankheitsprozess nicht zu alt war. Denn mit der Zeit siedeln sich nachträglich Mikroorganismen, vornehmlich Kokken an, die das mikroskopische Bild zum grossen Teil oder ausschliesslich beherrschen. Das Züchtungsverfahren mit der Platte wird dann die Diphtheriebazillen leichter finden lassen. Insbesondre gilt das von den Ausgüssen der Luftröhre beim Kehlkopfkroup, denn der eigentliche Kroup ist ursächlich gleich mit der Diphtherie.

Das ist nicht der Fall bei der **Scharlachdiphtherie,** bei der man die Diphtheriebazillen vermisst. Wie bei der einfachen lakunären Angina, lassen sich bei ihr vorwiegend Streptokokken nachweisen; sie werden überhaupt an entzündeten Stellen des Mundes und Rachens und bei Prozessen, die von hier ausgehen, gefunden; sie begleiten in gleicher Weise die diphtheritische Erkrankung, und können sie komplizieren. Die Virulenz der Diphtheriebazillen scheint durch ihren Einfluss erhöht zu werden.

Will man einen Aufschluss über die Bedeutung der Streptokokken bei derartigen Erkrankungen haben, so darf die Prüfung ihrer Virulenz nicht versäumt werden. Es bestehen gerade in dieser Hinsicht noch Mängel in unsern Kenntnissen, die durch weitere Untersuchungen ergänzt werden müssen. Man spritze von den Bouillonkulturen der durch Agarplatten isolierten Kettenkokken 0,5 ccm Mäusen in die Bauchhöhle; gehen diese nicht daran zu Grunde, so waren die Streptokokken kaum virulent. Ich habe einmal solche der Virulenz bare Kettenkokken aus einer Mandelentzündung erhalten, an die sich unmittelbar eine tödlich endigende eitrige Brustfellentzündung schloss, wobei hochvirulente Streptokokken nachgewiesen wurden. Waren das andre Arten von Kettenkokken oder die nämlichen, bei der ersten, der Mandelbelaguntersuchung noch nicht virulenten? Nur durch weitere Forschungen an der Hand einer grössern Anzahl von Fällen wird sich über diese Frage Aufschluss gewinnen lassen.

Auswurf.

Der Auswurf im eigentlichen Sinne ist die Absonderung der Luftröhre und der Lungen; aber sehr oft ist ihm Schleim aus dem Rachen und Speichel aus der Mundhöhle beigemischt. Der reine Auswurf aus der Luftröhre und aus den Lungen enthält beim Gesunden umsoweniger Bakterien, aus je tiefern Teilen er kommt; reines Lungensekret Erkrankter wird daher etwaige Krankheitserreger unbegleitet von andern Bakterien enthalten. Auf dem Wege bis zur Aussenwelt daran gekommene Keime lassen sich durch wiederholte Abwaschung, die zum Zweck allenfalls anzulegender Züchtungen mit sterilisiertem Wasser zu geschehen hat, ziemlich oder vollständig beseitigen, wenn ihnen keine Zeit zur Vermehrung gelassen wurde. Bleibt jedoch der Auswurf stehen, so siedelt sich auf ihm bald eine grosse Anzahl von Kleinwesen an, die entweder den obern Luftwegen entstammen, oder aus der Luft, der Spuckschale oder der sonstigen Umgebung ihren Ursprung nehmen, und sich teilweise durch eigentümliche Färbungen bemerklich machen, die sie dem Auswurf verleihen*).

Einwandfreie Untersuchungen über das Vorhandensein von Krankheitserregern im Auswurfe haben diese Verhältnisse wohl zu berücksichtigen, besonders wenn es sich um den Nachweis durch Züchtung handelt. Das gilt bei allen Lungenkrankheiten, die teils für sich, teils als Begleiterkrankungen bei Lungentuberkulose auftreten. Nur wenn auf Tuberkelbazillen allein,. ohne Rücksicht auf andre, oft wichtige, Bakterien gefahndet werden soll, lässt sich, dank dem eigentümlichen Verhalten gegenüber entfärbenden Mitteln (Säuren), auch nicht ganz frischer, längere Zeit sich überlassner, selbst sterilisierter Auswurf zur Erkennung der Tuberkulose verwerten.

Der Nachweis von Tuberkelbazillen im Auswurf

durch Färbung und Mikroskop beruht, man darf wohl sagen bekanntlich, auf der Thatsache, dass diese Krankheitserreger den Farbstoff schwerer aufnehmen, als die andern Bakterien und den einmal aufgenommenen ziemlich zäh festhalten, so dass sie selbst mit verdünnten Säuren und Alkohol behandelt werden dürfen, ohne ihn zu verlieren. Dieser Nachweis muss jedem Arzte ebenso geläufig sein, wie etwa die Prüfung des Harns auf Eiweiss und Zucker.

Man wählt dazu nach Koch nur die Teile des Sputums, die von der erkrankten Lunge abgesondert werden, also die zusammengeballten, gelblichen Klumpen, die oft nur vereinzelt in der schaumigen, schleimigen Flüssigkeit schwimmen, oft allerdings auch den grössten Teil des Auswurfs bilden. Aus diesen gelblichen, äusserst zähen Massen wird mit dem Skalpell ein solcher Ballen an den Rand der Schale befördert, ein Stückchen davon losgelöst, aus der Flüssigkeit heraus- und an der Innenwand des Gefässes emporgezogen. Hier lässt

*) Frick, Bakteriologische Mitteilungen über das grüne Sputum und über die grünen Farbstoff produzierenden Bazillen. V. 116. 266.

es sich leicht weiter zerteilen und in beliebig grossen Partikelchen abnehmen, um davon auf Deckgläsern oder Objektträgern recht gleichmässige und dünne Ausstriche anzulegen. Der etwaige Ueberschuss wird an eine Ecke des Ausstriches gebracht und von da mit Fliesspapier entfernt, das alsbald verbrannt wird (K. M. 2. 7).

Um die kleinen gelblichen Klümpchen leichter zu sehen, hat Krönig einen auch für andre Zwecke brauchbaren kleinen Glastisch mit Spiegelreflektor angegeben, der die Durchmusterung sowohl auf schwarzem, wie auf weissem Grunde, als auch im durchfallenden Lichte gestattet.

In sehr vielen Fällen gelingt es, etwa vorhandne Tuberkelbazillen ins Präparat zu bekommen, bei spärlichem Gehalte aber nicht sicher. Man hat dafür eigne

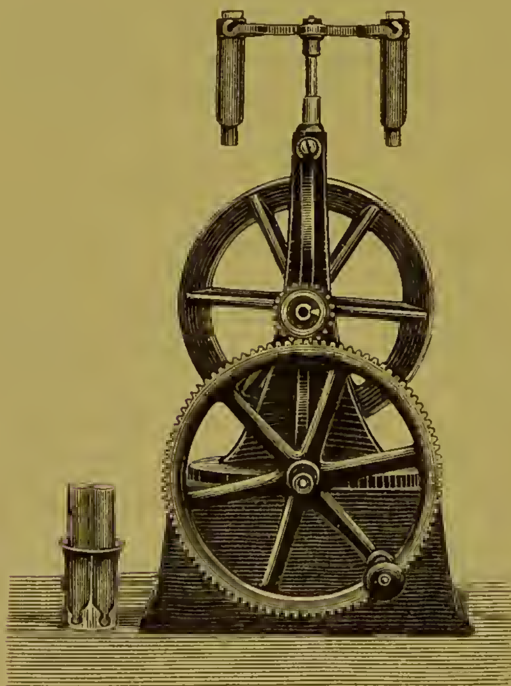
vorbereitende Massnahmen

zu dem Zwecke getroffen, die körperlichen Bestandteile des Auswurfs getrennt von der Flüssigkeit im Niederschlage zu vereinigen.

Zur Beschleunigung der Absetzung kann die Zentrifuge dienen. Wenn ich sie dazu auch nicht für durchaus nötig erachte, so muss ich ihr doch Vorteile zuerkennen.

Die Zahnrad- (oder Treibriemen-)Zentrifuge mit Handbetrieb wurde von Stenbeck-Litten (D. 91. 749) in die medizinische Untersuchungstechnik eingeführt. Ihre Einrichtung zeigt Fig. 123. Um das Instrument nicht in kurzer Zeit abzunützen, muss es auf einer vollkommen ebnen Unterlage stehen, andernfalls hört und sieht man, wie die ungleichmässigen Schwingungen gewaltsam an der Achse und an dem Querbalken rütteln, woran die beim Drehen wagrecht sich einstellenden Kapseln für die kleinen Reagensgläser hängen. An diesen ist unten ein kleiner, kugelförmiger Fortsatz angebracht, worin sich die ausgeschleuderten Teilchen sammeln. Die Instrumente werden bald für zwei, bald für vier und mehr Gläschen hergestellt. Beim Betrieb müssen sie sämtlich bis zu gleicher Höhe mit der zu untersuchenden Flüssigkeit oder mit Wasser gefüllt sein, damit Gleichgewicht besteht. Es würde sich während der Schleuderung der Sicherheit halber empfehlen, eine Schutzwand von Blech oder aus einem Drahtnetz gegen zufällig abfliegende Kapseln anzubringen. Nach der Zentrifugierung, die in 2—3 Minuten beendigt ist, und oft schon in kürzerer Zeit zum Ziele führt, werden die Gläser herausgenommen, die überstehenden Flüssigkeiten abgegossen und Teilchen vom Niederschlage mit einer kleinen Platinöse für die

Fig. 123.



mikroskopische Untersuchung entnommen. Jedes Gläschen muss sorgfältig mit Salzsäure, Schwefelsäure und kochendem Wasser oder heisser Sodalösung gereinigt werden, damit keine Reste zurückbleiben, die bei neuen Untersuchungen zu Täuschungen Veranlassung geben könnten. Gerade bei der Prüfung auf Tuberkelbazillen ist darauf zu sehen, am besten sind dazu immer neue Gläser zu nehmen, was leicht zu machen ist, da die Zentrifugierung nicht sehr häufig zur Anwendung kommt.

Die hier abgebildete Zentrifuge ist eine der billigern, gefertigt in der Maschinenfabrik von Bohn und Herber in Würzburg; sie kostete 40—50 Mk. Die Gläser mussten eigens von einer Glaswarenfabrik bezogen werden. Statt Handbetrieb kann man in grössern Anstalten Dampfkraft oder Elektromotoren und grössere Instrumente benützen; aber dann stehen, wie Jolles (Prager med. W. 93. 33) mit Recht einwendet, die zu erwartenden Ergebnisse auch nicht im entferntesten mit den bedeutenden Kosten im Einklang.

Bei einer andern Art, der Kreisselzentrifuge nach Gärtner (Wiener klin. W. 92 Nr. 25) befinden sich die Gläschen in einer Blechkapsel, durch deren Querachse ein senkrecht stehender, beiderseits in Widerlagern ruhender Eisenstab geht. Wird eine um ihn gewickelte Schnur rasch abgezogen, so gerät die flache Kapsel in Kreisselbewegung, die lange genug anhält, um eine Wirkung zu erzielen. Ein kleineres derartiges Instrument kostet gegen 90 Mk.

Die verschiednen zur Homogenisierung und Sedimentierung des Sputums empfohlnen und geübten Verfahren sind folgende:

a) nach Biedert (B. 86. 705; 87. 30; 91. 31):

15 ccm Auswurf + 30 ccm destillierten Wassers + 4 bis 8 Tropfen Kali- oder Natronlauge: verrühren mit Glasstab.

In einer Abdampfschale unter allmählichem Zusatz von 60 bis 90 ccm destillierten Wassers langsam zum Kochen bringen.

Ist die Masse gleichmässig dünnflüssig, zentrifugieren oder in ein Spitzglas giessen und bis zum Absetzen ruhig stehen lassen (kann 24—48 Stunden währen).

Entnahme vom Bodensatz und Anlegung von Ausstrichpräparaten. Da die Masse schlecht haftet, Fixierung mit Eiweiss oder mit etwas Sputum derselben Herkunft auf dem Objektträger oder Deckglase.

Stehen nur geringere Mengen Auswurfs zur Verfügung:

b) nach Mühlhäuser (D. 91. 282):

1—3 g Sputum werden im Reagensglase mit der 6—8fachen Menge 0,2%iger Kali- oder Natronlauge etwa 100mal aufgeschüttelt, einigemale aufgekocht und 24—48 Stunden stehen gelassen.

Bugge giesst die dergestalt vorbereitete und wieder kalt gewordne Probe in ein nach unten zu feiner Spitze ausgezognes Reagensglas, dessen feine Oeffnung mit dem Finger zugehalten wird, bis über die obere Mündung eine Gummikappe gezogen ist. Nach Bildung des Sediments genügt ein Druck auf die Membran zur Herausbeförderung eines Teilchens (Deutsche militärärztl. Zeitschr. 91. 240).

Derartige sedimentierte Sputa sollen, wenn man im ersten Präparat keine Tuberkelbazillen findet, zentrifugiert werden. Denn Krönig hat in einem Falle die Erfahrung gemacht, dass erst diese Behandlung des nach Mühlhäuser verarbeiteten Auswurfs zum Ziele führte (B. 91. 730).

Kamen schlug (Cr. 13. 733) vor, das nach der Biedertschen Methode vorbehandelte, auf Tuberkelbazillen verdächtige Sputum so lange mit absolutem Alkohol zu versetzen, bis das Gemisch das spezifische Gewicht des Wassers erreicht

hat, da in diesem Gemische die Tuberkelbazillen eher zu Boden sinken müssen, als in dem viel schwerern Auswurf, dessen spezifisches Gewicht nie unter 1035 sinkt.

c) nach Stroschein (Mittlg. a. Brehmers Heilanstalt 89. 285): Die Homogenisierung wird mit Wendriners Boraxborsäurelösung erreicht:

In heissem Wasser werden zunächst 8% Borax gelöst, dann 12% Borsäure zugesetzt und schliesslich noch 4% Borax hinzugefügt. Nach dem Erkalten scheidet sich der überschüssige Teil der Salze krystallinisch wieder aus. Nach Abfiltrierung setzt sich der Krystallisierungsvorgang noch eine Zeitlang fort, ohne zu stören (C. 4. 689).

Ungefähr 5—10 ccm des Auswurfs werden in einem Schüttelgefässe je nach der Konsistenz mit der gleichen, doppelten oder dreifachen Menge einer Mischung der genannten Lösung mit Wasser im Verhältnis von 1 : 3 versetzt, 1 Minute kräftig geschüttelt und in ein Glas zur Sedimentierung gegossen. Es dauert 4—5 Tage, bis Verflüssigung eingetreten, die Absetzung wird durch zeitweiliges Schütteln befördert.

d) nach van Ketel (A. 15. 109):
10 ccm Wasser + 6 ccm verflüssigter Karbolsäure + 10 bis 15 ccm des Auswurfs werden 1 Minute lang stark geschüttelt. (Ist er zu dünnflüssig, so werden 15 ccm davon + 6 ccm verflüssigter Karbolsäure ohne weitere Verdünnung geschüttelt.)
Eingiessen in ein Spitzglas. 12—24 Stunden stehen lassen.
Das vom Sediment angelegte Ausstrichpräparat wird getrocknet, durch die Flamme gezogen und, wenn dickere Schichten vorhanden, in Aetherspiritus (1 : 3) ausgewaschen.

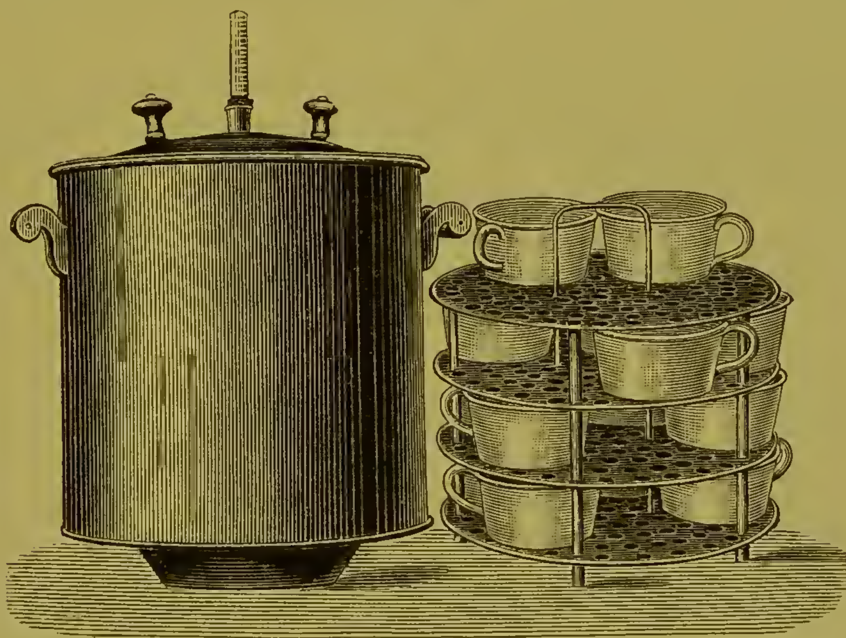
e) nach Dahmen (M. 91. 667):
Ein Reagiercylinder oder ein Becherglas, mit Auswurf teilweise gefüllt, wird 15 Minuten lang im siedenden Wasserbad oder im Dampf gehalten.
Erkalten lassen und etwas aufschütteln.
Abgiessung des opaleszierenden und milchig getrübten, flüssigen Teiles von den am Boden liegenden geronnenen Massen. (Dies ist jedoch nur bei grössern Mengen Auswurfs ratsam.)
Verreibung des krümligen Niederschlags im Achatmörser zu feiner, gleichmässiger Masse, die zu Ausstrichpräparaten verwendet wird.

Das bei dem zuletzt erwähnten Verfahren angewendete Prinzip halte ich für das allerzweckmässigste. Nach van Ketel soll zwar die Karbolsäuremethode manchmal noch mehr Bazillen zu Gesicht bringen; doch lässt sich das schwer beweisen. Ich meinesteils habe die Erhitzung im Dampf als weitaus am einfachsten und vollkommen zuverlässig erprobt, nehme sie aber nicht, wie Dahmen, bloss mit kleinen Proben des Auswurfs vor, sondern stelle die ganze Menge auf einmal in den Dampftopf und erziele auf diese Weise gleichzeitig eine Sterilisierung des Sputums samt den Spuckgefässen.

Spuckschalen habe ich, da andre Stoffe die Erhitzung nicht

so gut ertragen, aus Blech weiss emailliert und in geeigneter Form*) herstellen lassen. Zwanzig können zusammen auf einen von mir angegebnen Einsatz gestellt, in einen Topf von Blech gehoben werden. Der Topf, dessen Wasserbehälter so weit eingeengt ist, dass er in die Einsatzöffnung eines Herdes passt, wie er in der Theeküche wohl jedes Krankenhauses vorhanden, ist von Blech**), innen verzinnt (nach Kirchners Muster C. 9. 5), und trägt einen mit Muffe aufsitzenden Deckel, durch dessen zentrale Tubulatur ein Thermometer geführt werden kann. Doch ist das nicht notwendig. Man braucht den Wärter, dem die Desinfektion übertragen ist, nur anzuweisen, von dem Zeitpunkt an, wo er den Dampf am Deckel reichlich ausströmen sieht, bis zur Oeffnung und zur Herausnahme des Einsatzes mit den Schalen 5—10 Minuten zu warten. Dass dann der Inhalt vollständig sterilisiert ist, habe ich durch Versuche mit tuberkelbazillenhaltigem Auswurf und ähnlichem bewiesen (Deutsche militärärztl. Zeitschr. 93. 49).

Fig. 124.



Die Auswurfmassen werden so nicht bloss für die mikroskopische Untersuchung sedimentiert, sondern auch in der billigsten, einfachsten und sichersten Weise desinfiziert und dabei gleichzeitig ihrer zähen, klebrigen, fadenziehenden und ekelhaften Beschaffenheit entkleidet, so dass die Reinigung der Spuckschalen ohne weitere Vorsichtsmassregeln mit Leichtigkeit und anstandslos überall vorgenommen werden kann. Am Orte der Reinigung, wie an der Untersuchungstelle

*) Die in Fig. 124 abgebildeten Spuckschalen haben einen untern Durchmesser von 10,6 cm, einen obern von 12,8 cm und sind 7 cm hoch. Der (entbehrliche) Deckel ist am Rand 0,4 cm hoch umgefalzt, nach der Mitte zu 3 cm vertieft und hat hier einen kreisförmigen, 5 cm weiten Ausschnitt.

**) Der Blechtopf mit kupfernem Wassergefäss und einem Einsatz wird von Klempnermeister Jos. Mayer, Würzburg, Eichhornstrasse 18, zum Preise von 20 M. geliefert; die emaillierten Spuckschalen um 1 M. das Stück (mit Deckel 1,20 M.). Es empfiehlt sich, den Durchmesser des Herdlochs und die Höhe des Feuerungsraums bei etwaiger Bestellung anzugeben.

ist jedwede Gefahr der Verstreuung von Krankheitskeimen vollständig ausgeschlossen. Nicht nur der tuberkulöse, sondern überhaupt jeder aus dem Krankenzimmer kommende Auswurf wird im Militärlazaret zu Würzburg also behandelt.

Es ist bloss auffallend, dass sich dieses reinliche und bequeme Verfahren noch so wenig eingeführt hat.

Kommen Proben von auswärts zur Untersuchung, die nicht, wie es sein sollte, im Dampf desinfiziert und zum Schutze vor Fäulnis zu ½ % mit Karbolsäure versetzt sind, so werden sie sogleich dem Dampfapparate des Laboratoriums für ¼ Stunde übergeben; die betreffenden Glasgefässe werden aber vorher in ein Becherglas oder in eine Abdampfschale gestellt, damit ihr Inhalt nicht verloren geht, wenn sie zerspringen sollten.

Zum mikroskopischen Präparat wird irgend eins von den an der Wand des Gefässes haftenden Krümelchen entnommen; eine Verreibung des Niederschlages in der Reibschale (Achatmörser ist nicht nötig) wäre nur bei zahlenmässiger Bestimmung des Tuberkelbazillengehaltes erforderlich.

Es kann nicht eindringlich genug auf die Notwendigkeit hingewiesen werden, dass alle mit dem Auswurf in Berührung gewesnen Gegenstände, wie Spuckschalen, Reibschalen, Pistille, Platindrähte, Skalpelle, Objektträger, Deckgläser u. s. w. nach dem Gebrauche und nach dem Auskochen, Abglühen u. dgl. auf das gründlichste mechanisch unter allenfallsiger Zuhilfenahme von Chemikalien, wie Soda, Salzsäure, Schwefelsäure u. ä. gereinigt werden. Bei Deckgläsern hält dies besonders schwer, und wer sich ihrer bei der mikroskopischen Diagnose der tuberkulösen Erkrankung bedienen will, sollte stets neue verwenden. Sonst kann es vorkommen, dass im Präparate Tuberkelbazillen gefunden werden, die gar nicht von dem Kranken stammen, von dem das zu untersuchende Material herrührt. Aus demselben Grunde soll man auch nicht in Schälchen färben, sondern die Farbflüssigkeit aus Pipetten aufträufeln, die ihrerseits — das ist für alle bakteriellen Untersuchungen wichtig — niemals mit dem Objektglase in Berührung kommen dürfen. Die Abspülung muss unter der Wasserleitung oder mit der Spritzflasche oder mit dem Irrigator geschehen (Rosenbach, D. 91. 485).

Zur Vermeidung störender Einlagerungen von Rost-, Kohleteilchen u. ä. ins Präparat müssen die ausgeglühten Skalpelle, Platininstrumente u. s. w. von den anhaftenden Rückständen und Oxydationsprodukten durch Abreibung mit warmer Sodalösung blank gemacht werden.

Wie viele Präparate sollen jedesmal angefertigt werden? In der Regel genügt eins, namentlich wenn ein Sedimentierungsverfahren zu Hilfe genommen wurde, und wenn der Auswurf desselben Kranken voraussichtlich öfters zur Untersuchung kommen wird. Amann (Davos), dem ein Material von 4000 Sputumuntersuchungen von 1792 Kranken zur Verfügung stand, worunter bei 1498 (= 83%) Tuberkelbazillen nachgewiesen wurden, fand sie (C. 13. 365):

schon bei der 1. Untersuchung	bei	1027	Kranken	= 69	%
erst " " 2. "	"	291	"	= 19	"
" " " 3. "	"	105	"	= 7	"
" " " 4. "	"	59	"	= 4	"
" " " 5. "	"	11	"	= 0,7	"
" " mehr als 5 "	"	5	"	= 0,3	"

In 30 von 100 Fällen waren also mehrere Untersuchungen notwendig, um die Bazillen im Sputum aufzufinden. Eine Sedimentierung scheint dabei nicht, oder meist nicht angewendet worden zu sein.

Trotz Sedimentierung gelang mir der Nachweis in einem Falle mit ausgesprochnen Erscheinungen von Lungentuberkulose nur bei der zweiten Untersuchung, wo ganz am Rande des Ausstriches zwei Tuberkelbazillen gefunden wurden. Nachher durch Wochen, in denen ich den Auswurf mehrmals untersuchen konnte, nicht mehr; ein Beispiel für die Regel, man soll bei negativem Befunde das ganze Präparat durchmustern, da gerade am Rande oft noch ein Ergebnis gewonnen wird, wo beim Ausstreichen die körperlichen Bestandteile am leichtesten liegen bleiben. Sonst habe ich die Tuberkelbazillen, wenn sie überhaupt nachzuweisen waren, stets im ersten Ausstrich gefunden.

Ein gutes Hilfsmittel für die Durchmusterung ist der bewegliche Objekttisch nach Zeiss (als sog. grosser oder kleiner Kreuztisch); eine ähnliche Vorrichtung ist am mikrophotographischen Stativ fest angebracht; man muss damit nicht nur jede einzelne Stelle besichtigen, sondern kann sie auch jederzeit leicht wiederfinden, wozu eine Skala mit Nonius dient.

Sollen Objektträger oder Deckgläser benützt werden? Ich bevorzuge (s. S. 31) die viel handlicheren, unzerbrechlicheren, leichter zu reinigenden Objektträger, die sich auch bequemer auf meinem, besonders für Massenfärbungen bestimmten Gestelle (S. 27 Fig. 32) behandeln lassen. Ist die Farblösung auf die mit Libelle und Stellschrauben wagrecht gestellten Objektträger aufgeträufelt, so wird eine Gas- oder Spiritusflamme öfters unter ihnen hin und hergeführt, bis die Karbolfuchsinlösung Dämpfe abgibt. Dann bleiben die Präparate beliebig lange liegen, und können nach Abspülung, Eintauchung in Säure und Alkohol und Abwischung der untern Seite mit Fliesspapier, zur Nachfärbung (diesmal aber ohne zu erwärmen) wiederum aufs Gestell gelegt werden.

Für Deckgläser sind zwei einlegbare Schienen vorgesehen, worauf sie mit zweien ihrer Ecken ruhen; sie müssen dazu mindestens 18 mm Seitenlänge haben.

Für gewöhnlich hält man die Deckgläser mit der Cornetschen Pinzette (S. 26 Fig. 29b); eine dem gleichen Zwecke dienende Pinzette hat Frederikse (H. 2. 437) angegeben, einen etwas umständlichen Halter Ali-Cohen (B. 92. 571) beschrieben und abgebildet, bei dem ein Springen von Deckgläsern vermieden werden soll, das übrigens auch sonst nicht vorkommt, wenn man sie bis zum Rand mit Flüssigkeit reichlich bedeckt über die Flamme hält. Eine Färbung der Deckglaspräparate in Uhrschälchen, die man noch manchmal empfohlen findet, soll überhaupt nicht gemacht werden. Dieselben Gründe, die

gegen ihre Verwendung massgebend sind, gelten in erhöhtem Masse gegen Vorrichtungen, bei denen viele Präparate auf einmal in die Farbflüssigkeit getaucht werden, wie sie von Hofmeister (F. 10. 531) für Deckgläser und von Kutner (D. 93. 128) für Objektträger benützt wurden.

Die Färbung.

Man färbt fast allgemein mit Karbolfuchsinlösung (S. 36). Das jedenfalls als Beize wirkende Phenol ersetzt oder übertrifft alle andern bisher angegebnen derartigen Zusätze.

Es hätte lediglich historischen Wert, sie hier aufzuzählen. Ich verweise auf die historisch-kritische Uebersicht über die Entwicklung der Bakterienfärbung von Unna (C. 3. 22), auf die Monographie Czaplewskis: Die Untersuchung des Auswurfs auf Tuberkelbazillen (Jena bei G. Fischer 1891) und auf meinen zusammenfassenden Bericht über die Neuerungen auf dem Gebiete der bakteriologischen Untersuchungsmethoden seit dem Jahre 1887 (C. 10. 260).

Die von v. Rindfleisch in die Technik eingeführte Erwärmung der Lösung sichert die Eindringung des Farbstoffs in die Tuberkelbazillen und kürzt den Vorgang bedeutend ab. Nachdem die Deckgläser- oder Objektträgerausstriche gehörig lufttrocken geworden und dann dreimal durch die Flamme gezogen sind, werden sie mit der Cornetschen oder einer gewöhnlichen Pinzette gefasst oder auf mein Stativ gelegt, dann wird die Karbolfuchsinlösung mit einer Pipette, ohne das Präparat zu berühren, aufgeträufelt und über der Flamme erwärmt. Bei meinem Stativ kann man entweder eine Spiritusflamme oder die gewöhnliche, nicht leuchtende Flamme des Bunsenbrenners benützen. Hält man die Präparate aber mit einer Pinzette über die Flamme, so wird beim Bunsenbrenner die Luftzufuhr abgestellt und eine kleine, leuchtende Flamme genommen; geeignet ist das kleine Flämmchen am Sparbrenner (S. 362 Fig. 125); auch eine Spiritusflamme nimmt man nicht zu gross. Die Flamme soll das Glas nicht berühren und so lange einwirken, bis reichlich Dämpfe aufsteigen, ohne dass die Flüssigkeit zum Kochen kommt. Deckgläser müssen in ihrer ganzen Ausdehnung schwappend von der Farblösung bedeckt sein, bei Objektträgern genügt die Bedeckung eines Teils der Oberfläche, soweit der Ausstrich reicht. Sollte während oder nach der Einwirkung der Flamme die Flüssigkeit Neigung zu rascher Verdunstung oder zum Antrocknen zeigen, so wird sie durch neue ergänzt, die zweckmässigerweise wieder warm gemacht wird.

Wenn auch eine Minute hinreicht, so soll man sicherheithalber doch die Karbolfuchsinlösung mehrere Minuten wirken lassen. Die Zeit ist nicht begrenzt; man kann auch stundenlang färben.

Dann werden die Präparate mit Wasser abgespült.

Die hochgradige Erwärmung passt ausschliesslich für Ausstrichpräparate. Schnitte aus Organen müssen bei Zimmer- oder bei Körperwärme (Brutschrank) gefärbt werden und bleiben desto länger — ½ bis 12 bis 24 Stunden — in der Farblösung. Dann werden sie zunächst in eine Schale mit Wasser übertragen.

Hieran schliesst sich

Die Entfärbung und Nachfärbung.

Beide Zeiten werden gewöhnlich einzeln vorgenommen, lassen sich aber auch vereinigen. Dieser Teil der Herstellung eines Präparates hat die grösste Mannigfaltigkeit der Methoden aufzuweisen.

Die einfachste Art, die auch die schönsten Ergebnisse liefert, ist die Entfärbung mit verdünnten Mineralsäuren und mit verdünntem Alkohol, sowie die Nachfärbung mit wässriger oder wässrig-alkoholischer Methylenblau-(Malachitgrün-)Lösung in drei Zeiten.

Von Säuren kamen vornehmlich Salpeter-, Salz- und Schwefelsäure zur Verwendung. Die Schwefelsäure eignet sich ihrer mindest eingreifenden Eigenschaften wegen am besten, am wenigsten schonend wirkt die Salpetersäure (Czaplewski). Je verdünnter sie genommen wird, desto besser. Im allgemeinen benützt man eine (vorrätig zu haltende) Mischung von 1 Teil Säure + 4 Teile Wassers. Die Schwefelsäure muss bei der Bereitung immer ins Wasser gegossen werden; wenn man umgekehrt verfährt, läuft man Gefahr, von den durch die rasche und starke Erhitzung explosionsartig herausgeschleuderten Tropfen verletzt zu werden (s. a. S. 134).

In der verdünnten Säure bleiben die Präparate allerhöchstens zwei Sekunden, d. h. sie werden flüchtig ein oder zweimal eingetaucht.

Unmittelbar danach spült man die Säure in verdünntem Alkohol (etwa 6—7 Teile Spiritus + 3—4 Teile Wassers = 60 %) ab. Nach Günthers Erfahrungen hat der Alkohol ein desto kräftigeres Vermögen, Farbstoffe auszuziehen, je verdünnter er ist (S. 45).

Die verdünnte Säure und der verdünnte Alkohol werden am geeignetsten in zwei becherartigen, standsichern Glasgefässen von etwa 50—80 ccm Rauminhalt (um einen Objektträger seiner Länge nach eintauchen zu können) bereit gestellt. Eine Wasserspülung zwischen den beiden Zeiten ist durchaus verpönt. Denn durch die Säurewirkung ist die einfach saure Farbverbindung in eine dreifach saure, in Alkohol löslichere Verbindung übergeführt worden; eine Wasserbehandlung würde nur die in Alkohol schwerer lösliche, einfach saure Verbindung wenigstens teilweise wieder herstellen.

Im verdünnten Spiritus werden die Präparate wohl gebadet, bis sie höchstens noch einen roten Anflug zeigen. Einzelne, allenfalls dicker aufgetragne Teilchen bleiben auch nach längerm Baden gerne rot. Man kann nun zwar nochmals in Säure tauchen und in Spiritus nachspülen, wird dadurch aber der Tuberkelbazillenfärbung eher schaden, als das Aussehen des Präparats wesentlich fördern. Darum soll eben von Anfang an die Probe nur in ganz feiner Schichte ausgestrichen werden.

Manche belieben eine Vereinigung von Alkohol und Säure; am meisten hat sich dazu der salzsaure Alkohol (3 Säure + 97 Alkohol) eingeführt. Sie hat aber den Nachteil, dass eine etwa für nötig erachtete Verbesserung nicht vorgenommen werden kann, die man namentlich bei beliebig langer Spiritusspülung in der Hand hat.

Kommen die Präparate aus dem Alkohol, so können sie mit Wasser abgespült werden. Doch ist das unnötig. Man lässt den Spiritus abtropfen, wischt die untere Seite des Objektglases mit Fliesspapier ab, legt das Glas auf den Tisch oder auf eine Fliesspapierunterlage oder auf mein Stativ und träufelt die Gegenfarbe auf.

Die wässrige Methylenblaulösung — wer Grün lieber sieht, nimmt wässrige Malachitgrünlösung — soll nicht länger als 1/4 bis höchstens 1 Minute einwirken, weil sonst möglicherweise Tuberkelbazillen die Gegenfarbe annehmen können. Basisch Blau würde das noch leichter ermöglichen; darum ist von seiner Benützung hier abzuraten.

Schliesslich wird die Farbe mit einem Wasserstrahl abgespült, das Glas zwischen mehrfachen Lagen Filtrierpapiers vorsichtig mit der flachen Hand gedrückt (nicht wischen!) und so getrocknet. Deckgläser werden nur auf einer Seite getrocknet, auf der Präparatseite bleibt ein Tröpfchen Wasser zurück, mit dem sie auf den Objektträger gelegt wird.

Objektträger werden gut getrocknet. Dann kommt ein Tropfen Immersionsöl ohne Zwischenlagerung eines Deckglases auf die Präparatseite. Das Oel kann nach der Untersuchung ohne Schädigung entfernt werden, wenn man ein Stückchen trocknes Fliesspapier andrückt, dann einige Tropfen Xylol darauf fallen lässt und danach mit trocknem Fliesspapier abtupft.

Entfärbung und Nachfärbung lassen sich auch in einen Akt zusammenziehen, ein Gedanke, den B. Fraenkel zuerst verwirklichte, und aus dem unabhängig von B. Fraenkel das Gabbetsche Verfahren in etwas andrer Ausführung hervorging.

Die mit Karbolfuchsin heiss gefärbten und mit Wasser abgespülten Präparate werden für eine Minute in folgende Lösung versenkt:

25%ige Schwefelsäure (= 1 + 3 destilliertes Wasser);

Methylenblau(-Pulver) soviel, dass eine gesättigte Blaufärbung entsteht.

Dann werden sie mit Wasser gehörig abgespült, zwischen Fliesspapier getrocknet und mit der Immersion untersucht.

Da die Methode bei ihrer einfachsten Handhabung gute Bilder liefert, so hat sie viele Anhänger erworben. Wer aber einwandfreie Ergebnisse haben will, thut besser, Entfärbung und Nachfärbung getrennt vorzunehmen, und sich durch die paar Handgriffe mehr nicht abschrecken zu lassen. Denn man muss die Bedenken von P. Guttmann und Czaplewski teilen, dass bei ihrer Anwendung die Schönheit des Präparats im allgemeinen leide, dass man die Beurteilung der Wirkung und die Vollendung des Präparats weniger in der Hand habe, endlich dass manche Tuberkelbazillen durch Entfärbung verloren gehen können, was bei geringer Zahl sehr in die Wagschale fällt.

Ein lediglich für die Praxis und ihre beschränkten Hilfsmittel zugeschnittnes Verfahren stammt von P. Kaufmann (Cairo).

Als Entfärbungsmittel dient siedendes Wasser; eine Nachfärbung wird gar nicht gemacht. Im siedenden Wasser geben die meisten Bakterien den aufgenommenen Farbstoff rasch ab, die Tuberkelbazillen erweisen sich auch hier widerspenstiger, aber nach 4 Minuten

fangen sie ebenfalls an, die Farbe zu verlieren. Man schwenkt also das in der gewöhnlichen Weise mit Karbolfuchsin gefärbte Präparat 1½ bis 3 Minuten, oder besser so lange darin, bis das auf den Objektträger gelegte Deckgläschen grade noch einen schwachen, rosigen Schimmer zeigt. Bei der Untersuchung erscheinen die Tuberkelbazillen dunkelrot auf grauweisslichem Grunde (C. 12. 142).

Endlich sei noch einer ganz verfeinerten Methode für das Laboratorium gedacht, die ihren Ursprung der Sorge verdankt, es möchten durch die bisherigen Methoden einzelne Tuberkelbazillen dem Nachweis entgehen, weil sie von der starken Säure entfärbt würden und die Gegenfarbe annähmen. Czaplewski liess deshalb die starken Mineralsäuren ganz beiseite und wählte einen sauern Anilinfarbstoff (Fluorescin) in Verbindung mit Methylenblau, der, an sich ohne besondre färbende Kraft, eine desto stärker lösende und ausziehende Eigenschaft gegenüber dem Fuchsin besitzt. Eine Gegenfärbung ist darum immer noch nötig; sie wird von Czaplewski mit konzentrierter alkoholischer Methylenblaulösung gemacht, die sich hier geeigneter erwies, wie die wässrige.

Vorschrift zur Fluorescin-Methylenblaulösung:

Gelbes Fluorescin (Grübler-Leipzig) 1,0
Alkohol 100,0
1—2 Tage stehen lassen, dann vom Bodensatz abgiessen und Zugabe von Methylenblau 5,0
Schütteln; 1 Tag stehen lassen und vom Bodensatz abgiessen.

Vorschrift für die konzentrierte alkoholische Methylenblaulösung:

Methylenblau 5,0
Alkohol 100,0

Beim Gebrauche vom Bodensatz abheben, oder abgiessen, allenfalls filtrieren.

Ausführung der Czaplewskischen Methode:

Färbung mit erwärmter Karbolfuchsinlösung.
Abtropfenlassen des Farbstoffs ohne Wasserspülung.
Eintauchen in Fluorescin-Methylenblau 6—10mal nacheinander.
Eintauchen in konzentrierte alkoholische Methylenblaulösung 10—12mal nacheinander.
Abspülung mit Wasser.

Sind die Präparatschichten, die sehr dünn sein müssen, noch zu sehr rot, so werden beide Farbbäder wiederholt. Das Baden erfolgt dergestalt, dass man eintaucht und die Flüssigkeit immer wieder langsam über die Oberfläche des Deckglases abfliessen lässt.

Die Zusammenfassung der mikroskopisch-bakteriologischen Diagnose

der tuberkulösen Erkrankung der Atmungsorgane durch die Untersuchung des Auswurfs beginne ich mit einer kurzen rekapitulierenden Uebersicht der Methode, die wohl am häufigsten in Gebrauch ist und auch in der von mir geleiteten Untersuchungstation regelmässig zur

Anwendung kommt, nach Ziehl-Neelsen (Johne, F. 3. 200) mit kleiner Abänderung:

Einstellung des Auswurfs in den Dampftopf für 15 Minuten.

Ausstreichung eines Krümelchens auf den Objektträger (oder auf das Deckglas) in möglichst dünner Schicht mit einem Platindraht.

Gehörig lufttrocken werden lassen.

Mit einer Pinzette gefasst dreimal durch die Flamme ziehen (Präparatseite nach oben).

Wenn mehrere Proben gleichzeitig zu färben sind, auflegen auf mein Stativ (S. 27 Fig. 32).

Aufträuflung von Karbolfuchsinlösung (Objektträger nur teilweise, Deckgläser ganz bedecken).

Erwärmung über einer (kleinen) Flamme, bis reichlich Dämpfe und die ersten Blasen aufsteigen; (abtrocknende Farbflüssigkeit ergänzen).

Fig. 125.



Präparat beiseite legen oder liegen lassen für 1—10 Minuten.

Abspülung des überschüssigen Farbstoffs mit einem Wasserstrahl.

Zweimal untertauchen in verdünnter Schwefelsäure (1 + 4 Wasser).

Baden und schwenken in etwa 60 %igem Spiritus.

Entfernung des überschüssigen Alkohols von der Präparatseite durch Abfliessenlassen, von der Rückseite durch Abwischen.

Aufträuflung von wässriger (wässrig-alkoholischer) Methylenblaulösung, die man etwa ½ Minute einwirken lässt.

Abspülung mit Wasser.

Trocknung zwischen Filtrierpapier. Objektträger werden beiderseits getrocknet; auf die gefärbte Schicht kommt ein Tropfen Immersionsöl. Deckgläser werden mit der Präparatseite auf den Objektträger mitsamt dem anhängenden Wasser gelegt und dieses, soweit hervortretend, mit Fliesspapier abgesaugt.

Untersuchung mit der Oelimmersion bei vollständig geöffnetem Kondensor des Abbeschen Beleuchtungsapparates.

Fig. 125 zeigt die sämtlichen Gebrauchsgegenstände der Reihe nach aufgestellt von der Spuckschale bis zur Schale für das Spülwasser; darüber liegen eine schwarze Glasplatte, Objektträger und Fliesspapier, worauf die Spritzflasche steht.

Ist alles wohl gelungen, so sieht man nach richtiger Einstellung den blauen Untergrund, dessen Färbung bei dem mit Hitze behandelten Auswurf meist weniger kräftig ist, wie bei frisch untersuchtem. Sind Tuberkelbazillen vorhanden, so erkennt man sie auf den ersten Blick an ihrer gesättigt roten Färbung. Sie sind meist schlank und erheblich länger als breit, doch kommen auch kurze Stäbchen vor, deren Längsdurchmesser den der Breite kaum übertrifft. Sie sind bald gerade, bald gekrümmt, oder gebogen oder geschwungen, liegen gern in Häufchen zusammen, zwei, drei, selbst mehr bilden ein förmliches Bündel miteinander, vielfach findet man sie dann parallel nebeneinander, doch auch Y- oder pinselförmig auseinanderstrebend, ähnlich einem gabelnden Aestchen. Gar nicht selten trifft man im Verlaufe des Bacillus, dessen Enden für gewöhnlich nicht merkbar angeschwollen sind, helle Stellen, die aber keine Sporen sind; denn Sporen bilden die Tuberkelbazillen nie, sie gehen regelmässig bei 70° zu Grunde. Diese hellen Stellen sitzen vielfach seitlich, so dass man wohl meinen könnte, eine kurze Kette von Kokken zu sehen (Kokkothrixform Unnas). Mit gewissen eingreifenden Behandlungsmethoden lassen sich diese Formen unschwer zur Anschauung bringen, schon durch die Einwirkung der verdünnten Säuren, namentlich der Salpetersäure. Häufig begegnen wir derart veränderten Zellen im Auswurf, wenn er länger als 5 Minuten im Dampf gehalten wurde, noch markantere Veränderungen machen sich nach dem Kochen mit Kalilauge (Biedertsches Verfahren) bemerkbar in Gestalt knopfförmiger Auftreibungen an auffallend dünnen Stäbchen (ähnlich, aber nicht ganz so, wie sie Maffucci in Kulturen von Hühnertuberkulose beschrieben hat [Z. 11. 472] und wie sie Klein, ferner Fischel photographisch wiedergegeben haben). Mein Photogramm Taf. III, Nr. 18 zeigt solche durch heisse Kalilauge bedingte Veränderungen, die Bilder Taf. III, Nr. 17 und 19 geben das gewöhnliche Aussehen wieder.

Zweifel rufen bei weniger Geübten Dinge hervor, die trotz angewendeter Säure und Spiritus noch rot geblieben sind. Selbst andersartige Bakterien, Kokken wie Stäbchen, die sich in einem längere Zeit stehen gebliebnen Auswurf, besonders im Sommer reichlich angesiedelt haben, behalten mitunter eine blassrote Färbung, wenn die Schichte zu dick aufgetragen oder die Entfärbung nicht sorgsam geleitet war; schon diese matte Tinktion spricht, abgesehen von der Form der Bakterien selbst, gegen Tuberkelbazillen. Wo angetrocknete Flüssigkeitschichten oder zellige Gebilde nahe aneinander liegen und sich mit ihren Grenzen berühren, bleibt auch oft ein strichförmiger roter Schimmer bestehen, der bei andrer Einstellung des Mikroskops leicht verschwindet. Zur Verwechslung haben ferner Fettsäure-, Cholestearin und andre Krystalle, in Sonderheit die ganz kleinen rhombischen, Veranlassung gegeben, wenn ihre Begrenzungen bei gewisser Einstellung rötlich schienen; ja selbst schwarze, strichförmige Gebilde im Präparat, die oft nicht grösser wie Tuberkelbazillen sind, wurden schon dafür angesehen: was alles nicht möglich wäre, wenn man sich die doch im Ganzen regelmässig gestalteten, leuchtend rot erscheinenden Gebilde vergegenwärtigte.

Wer seiner Sache nicht ganz sicher ist, der sehe zum Vergleich

ein Präparat mit gut gefärbten Tuberkelbazillen an, und wer längere Zeit trotz eifrigen Suchens nichts findet und glaubt, die Schuld einer mangelnden Technik oder einer ungenügenden Beschaffenheit der Farblösung u. s. w. beimessen zu dürfen, der nehme einen tuberkelbazillenhaltigen Auswurf, wie er zu derartigen Zwecken im Dampfe sterilisiert und zu $^1/_2$ % mit Karbolsäure versetzt, vorrätig sein möge, und mache die ganze Methode mit ihm nochmals durch; es bietet dies gleichzeitig Gelegenheit, die schwindende Färbbarkeit und Gestalt lang aufbewahrter, abgetöteter Tuberkelbazillen kennen zu lernen.

Der Nachweis von elastischen Fasern

wird häufig, unter anderm auch in den Fragebogen über Sammelforschung bei Lungentuberkulose gefordert, und ich will daher nicht versäumen, seiner hier zu gedenken, wenn auch die Beschreibung über den engern Rahmen dieses Buches hinausgeht.

Der Auswurf wird dazu mit etwa gleichen Teilen Kalilauge oder Natronlauge (Liqu. Kali oder Natri caustici) in einer Abdampfschale über der Flamme gekocht, in ein flaches Glasschälchen (Kulturschale) in nicht zu dicker Schichte gegossen und mit schwacher (50—100facher) Vergrösserung bei eng gestellter Irisblende durchgemustert. Auch bereits im Dampf sterilisierter Auswurf eignet sich noch, ja gibt vielleicht noch sichrere Resultate; nur müssen die geronnenen Massen ebenfalls mit Kalilauge, wie oben, gekocht werden. Noch besser ist es, die Absetzung der körperlichen Bestandteile im Spitzglas abzuwarten oder sie auszuschleudern. Die vielfach verschlungnen, zierlichen elastischen Fasern und selbst einzelne von ihnen werden, wenn man ihnen unterm Mikroskop begegnet, leicht erkannt. Auch hier thut man gut, sich ein Vergleichspräparat vorrätig zu halten: Ein Stückchen Lunge wird zerquetscht und zerhackt und mit Kalilauge gekocht; ein Bündel elastischer Fasern wird dann unter Leitung des Mikroskops herausgefischt, in Glyzerin unter einem Deckgläschen eingebettet, auf jede Ecke ein Wachstropfen mittels brennenden Kerzchens gegeben und dieser mit einem warmen Draht zu einem Rahmen ausgezogen, der mit Asphaltlack überpinselt wird (Photogr. Taf. IV Nr. 24 zeigt also gewonnene elastische Fasern).

Sieht man elastische Fasern im Auswurf, so muss immer noch Vorsicht in der Deutung walten.

Ich traf sie einmal in dem mir zur Untersuchung übergebnen Auswurfe eines Kranken an, der nach einer Operation eine Fistelöffnung der Brusthöhle zurückbehalten hatte. Es entleerten sich öfters Gewebefetzen aus der Fistel, und es bestand der Verdacht, sie möge mit der Lunge in Verbindung stehen. Neben den elastischen Fasern aber waren, trotz Behandlung mit Kalilauge einige Muskelfasern mit schräg abgeschnittnen Enden zu sehen. Es waren das offenbar Reste des mit dem Messer zerkleinerten Fleisches der Kost. Es lag nahe, auf diesen Ursprung auch die elastischen Fasern zurückzuführen.

Amann fand elastische Fasern in 88 % der Tuberkelbazillen enthaltenden Proben. Coppen-Johnes sah auffallend häufig in tuberkulösem Auswurf, in 30 % der Fälle gleichzeitig mit elastischen Fasern, einen eigentümlichen, noch nicht sichergestellten Fadenpilz (C. 13. 697).

Die diagnostische Bedeutung des Tuberkelbazillenfundes.

Der Nachweis deutet mit Sicherheit auf eine tuberkulöse Erkrankung der Atmungsorgane an einer Stelle, die so gelagert ist, dass von ihr aus die gebildeten Krankheitsprodukte mit den Tuberkelbazillen ins Freie gelangen können. Ein negativer Befund aber spricht nicht dagegen; denn die tuberkulösen Herde können in der Tiefe und an einem Orte sitzen, der keine Verbindung mit der Aussenwelt hat.

Reichliche Mengen von Tuberkelbazillen lassen ebensowenig einen besonders heftigen, schnell fortschreitenden Prozess voraussetzen, wie der Nachweis nur vereinzelter den Schluss auf einen gutartigen Verlauf oder auf eine beginnende Ausheilung gestattet. Nur wenn der Bazillengehalt bei fortgesetzten, in nicht zu grossen Zwischenräumen angestellten Untersuchungen zusehends abnimmt, kann man annehmen, dass die erkrankten Partien mit der früher bazillenreichen Absonderung möglicherweise einer Besserung oder Ausheilung entgegen gehen; aber man kann nicht wissen, ob nicht in der Tiefe ein neuer, vielleicht gefährlicherer Herd in der Bildung begriffen ist. Insonderheit sind die Bronchialdrüsen der Ort, wo gewissermassen das Feuer im Verborgnen fortglimmt, um bei gegebner Gelegenheit hier oder dort ansteckend hervorzubrechen. Eine Besserung lässt sich bei abnehmender Zahl der Tuberkelbazillen nur unter gleichzeitiger sorglicher Berücksichtigung der Ergebnisse der physikalischen Untersuchung feststellen, wenn die Auskultation und Perkussion einen Rückgang der krankhaften Veränderungen, das Thermometer die Rückkehr zur physiologischen Körperwärme anzeigt, deren Ansteigen übrigens oft durch nachträglich eingewanderte pathogene Bakterien (Streptokokken u. a.) bedingt ist, wenn die Inspektion und die Wägung eine Zunahme der Körperfülle erkennen lassen, und wenn der Appetit, die Verdauung und das subjektive Befinden des Kranken sich wesentlich hebt.

Die Mengenbestimmung der Tuberkelbazillen

gelingt mit annähernder Richtigkeit nur in einem zu einheitlicher Masse verarbeiteten Auswurf.

Zu diesem Zwecke hat Stroschein zuerst eine Homogenisierungsmethode (s. S. 354) angegeben. Abgemessne Mengen des Auswurfs und der Boraxborsäurelösung werden in einem Mischcylinder von 100 ccm Inhalt nach Verschluss mit dem Glasstopfen mehrere Minuten lang geschüttelt, bis die Flüssigkeit gleichmässig weissgrau oder graugelblich geworden ist, dann wird mit einer in 100 Teile geteilten 1 ccm-Messpipette, die am obern Ende eine Saugvorrichtung nach Art der Strohscheinschen Spritze (S. 154) trägt, entnommen und 0,01 ccm davon auf einem Deckgläschen gleichmässig bis zum Rande ausgebreitet und getrocknet. Die Trocknung bei etwa 70° nahm Stroschein auf einer durch ein kleines Flämmchen erwärmten Messingplatte vor, die je drei kleine, mit einem Nagel vorgetriebne Erhebungen trug, worauf die Deckgläschen ruhten. Bei der Zählung der Tuberkelbazillen im gefärbten Präparate diente der bekannte Durchmesser des Gesichtsfelds als Faktor für die Berechnung.

Preyss, der ein im ganzen ähnliches Verfahren einschlug, legte zur Zählung ins Okular eine Glasscheibe mit eingraviertem Quadrat ein, dessen Grösse einem bekannten Bruchteil des verwendeten Deckglases entsprach (M. 91. 418; s. a. die Zählungen unterm Mikroskop beim Kapitel Wasser).

Eine entsprechende gleichmässige Verteilung der Bazillen des Auswurfs, die für alle diese Zwecke notwendig ist, erzielte Dahmen durch Verreibung der bei der Sterilisierung im Dampf ausgefallnen krümligen Massen.

Sehr peinlich ging Nutall zu Werke. Die Ausführung seiner Methode erfordert aber derartig mannigfaltige, nur für diesen Zweck dienende Einrichtungen, dass ihre genaue Beschreibung innerhalb unsers Rahmens eine zur Häufigkeit der praktischen Anwendung nicht im Verhältnis stehende Breite einnehmen würde. Sie findet sich ausser in den Bulletin of the Johns Hopkins Hospital 91. 67 veröffentlicht in der Z. f. klin. Med. 21. 241 und im Cr. 11. 479.

Es ist auch füglich nur in seltnen Fällen nötig, eine absolute Zahlenbestimmung der überhaupt vorhandnen Tuberkelbazillen zu haben, es genügt vielmehr eine Angabe, wie viel von ihnen durchschnittlich im Gesichtsfelde vorhanden sind, um ein Bild von dem Bazillengehalt des Auswurfs zu bekommen. Nach den dadurch gewonnenen Anhaltepunkten hat Gaffky (K. M. 2. 126) zu vergleichbaren Untersuchungen und Angaben folgende Skala aufgestellt:

1 =	im ganzen Präparate nur	1—4	Bazillen.
2 =	durchschnittlich auf mehrere Gesichtsfelder erst	1	Bacillus.
3 =	„ in jedem Gesichtsfelde etwa	1	Bacillus.
4 =	„ „ „ „ „	2—3	Bazillen.
5 =	„ „ „ „ „	4—6	„
6 =	„ „ „ „ „	7—12	„
7 =	„ „ „ „	ziemlich viele	„
8 =	„ „ „ „	zahlreiche	„
9 =	„ „ „ „	sehr zahlreiche	„
10 =	in jedem Gesichtsfelde enorme Mengen von Bazillen.		

Um aber bei etwaigen Bestimmungen nicht an das Nachschlagen in dieser Tabelle gebunden zu sein, hat Ritter (D. 93. 588) zur Annahme einer Methode geraten, die ähnlich, wie bei der Bestimmung der Sehschärfe üblich, in einer einfachen Bruchformel Aufschluss über den gefundnen Tuberkelbazillengehalt gibt: Den Zähler bildet die Menge der gefundnen Bazillen, den Nenner die Zahl der Gesichtsfelder; $\frac{1}{\text{I}}$ bezeichnet einen Bacillus in jedem Gesichtsfelde, $\frac{1}{\text{IV}}$ einen Bacillus in 4 Gesichtsfeldern u. s. f.

Noch genauere Aussagen würde eine Bezeichnung machen, die Czaplewski (T. 1. 385) vorschlug: In den Zähler kommt die Zahl der Bazillen, in den Nenner mit arabischen Ziffern die Zahl der Gesichtsfelder. Eine römische Ziffer soll die Zahl der ganzen Präparate ausdrücken, wenn der Bazillengehalt überhaupt ein sehr geringer war.

Es wäre also:

$\frac{6}{1}$ = 6 Bazillen in 1 Gesichtsfeld.

$\frac{\infty}{1}$ = unendlich viele Bazillen in 1 Gesichtsfeld.

$\frac{1}{5}$ = 1 Bazillus in 5 Gesichtsfeldern.

$\frac{2}{I}$ = 2 Bazillen in einem ganzen Präparate.

$\frac{1}{VI}$ = 1 Bacillus in 6 Präparaten.

$\frac{0-6}{1}$ D = $\frac{3}{1}$ würde den Durchschnitt aus dem gefundnen Minimum und Maximum aus einer Anzahl von Gesichtsfeldern ausdrücken. Derartige Angaben sind aber nur für je eine bestimmte Linsenkombination richtig, da beim Wechsel von Objektiven, Okularen oder Tubuslänge der Durchmesser des Gesichtsfelds ein andrer wird.

Hat man weder durch die einfachen Verfahren, noch durch freiwilliges Absetzenlassen oder durch Ausschleudern Tuberkelbazillen nachweisen können, glaubt man aber trotzdem Verdacht auf Tuberkulose der Atmungsorgane hegen zu müssen, so kommt in letzter Linie als wichtiges Entscheidungsmittel der **Tierversuch** in Betracht. Wegen der in dem Auswurf und in dem ihm beigemengten Mundspeichel häufig enthaltnen, für Kaninchen pathogenen Kapselkokken und andrer Septikämie erzeugender Bakterien können dabei nur die Meerschweinchen mit Aussicht auf Erfolg verwendet werden, zumal Kaninchen nicht immer für die Infektion mit Tuberkelbazillen empfänglich sind. Ein Sputumballen wird in eine angelegte Hauttasche an der Bauchwand eingeschoben und durch geeigneten Verschluss gegen das Herausgleiten der Schleimmasse Sorge getragen. Ein untrügliches Kennzeichen für eine angehende Impfung sind Drüsenschwellungen in der Nachbarschaft der Impfstelle. Tötet man das Tier aus den S. 322 auseinandergesetzten Gründen nach Ablauf von etwa 6 Wochen, so wird man diese Drüsen gegebnen Falls verkäst und tuberkelbazillenhaltig, und die Erkrankung vielleicht schon auf die nahe liegenden Unterleibseingeweide vorgeschritten finden.

Der Nachweis der Tuberkelbazillen in Schnitten

aus dem Auswurf ist bis jetzt noch nicht geführt worden, obgleich für andre Zwecke, wie für Untersuchungen auf Riesenzellen, auf eosinophile Zellen oder bei Asthma durch A. Schmidt (D. 93. 530 und 822), Gabritschewski (D. 91. 1198), Aronson und Philipp (D. 92. 48) schon Schnitte aus ihm angelegt wurden. Die Härtung erfolgt wie gewöhnlich mit Alkohol in aufsteigender Stärke, worauf die Ballen in Celloidin eingebettet und geschnitten werden.

Um so häufiger wird er geübt zur Stellung der Diagnose oder zum Studium der Tuberkulose an Organstückchen der Leiche.

Diese machen zunächst die gebräuchliche Härtung in Alkohol durch. Müllersche Flüssigkeit eignet sich dazu nicht. Doch soll die Färbung der Tuberkelbazillen noch gelingen, wenn man gehörig auswässert (Pacinotti, Cr. 14. 292) und die durch die Gefriermethode erhaltnen Schnitte mit Alkohol behandelt. Letulle (Fr. 10. 702) bettete so gehärtete Gewebestücke in Celloidin zum Schneiden ein, färbte erst die Kerne in den Schnitten mit Hämatoxylin, dann die Tuberkelbazillen mit Karbolfuchsin (2 % Phenol) — Wasser 1 Minute — Alkohol ½ Minute — Jodgrün (1 g gelöst in 2 % Karbolwasser) 5 Minuten — Alkohol — Bergamottöl — Xylol.

Aber die Einbettung in Celloidin ist beim Tuberkelbazillennachweis durchaus nicht empfehlenswert. Für am meisten geeignet halte ich die Anetholmethode (S. 40), die überhaupt die Färbung der Bakterien sehr zu fördern und dauerhaft zu machen scheint.

Wahrscheinlich kommt diese vorteilhafte Wirkung auch andern Oelen zu, und die Art der Einbettung, wie sie Cirincione (J. 7. 665) empfiehlt, erscheint darum ebenfalls gut:

Die 24 Stunden oder länger in absolutem Alkohol fixierten und entwässerten Gewebestückchen werden 12 Stunden lang mit Bergamottöl durchtränkt, dann noch 24 Stunden mit bei 35° geschmolzner Cacaobutter. Diese wird nachher durch kaltes Wasser zum Erstarren gebracht, und die Masse gleich darauf in Schnitte zerlegt. Diese kommen in Bergamottöl, worin sich die Cacaobutter löst; die freigewordnen Gewebeschnitte werden in Alkohol übertragen.

Die Behandlung der Schnitte braucht von der der Ausstrichpräparate nur insoferne abzuweichen, als die hochgradige Erhitzung durch 15—30 Minuten und länger dauernde Einwirkung des Karbolfuchsins bei Zimmer- oder Brutschrankwärme ersetzt wird. Doch hat man auch Aenderungen, namentlich in der Anwendung von Säure eintreten lassen, weil durch sie die Bazillenfärbung leiden könnte; sicherlich eignen sich alle mit Säuren behandelten Präparate irgendwelcher Art nicht zur Aufbewahrung, da selbst nach gründlichem Wasserbade Reste zurückbleiben können, die den Farbstoff in den Bakterien mit der Zeit zum Verschwinden bringen; nicht zu übersehen ist dabei eine schädliche Einwirkung gewisser, zur Herstellung von Deckgläsern und Objektträgern verwendeter, kalkarmer Glassorten (S. 13).

Sehr schwache Säure benützte Czaplewski in Gestalt der Ebnerschen Entkalkungsflüssigkeit, zusammengesetzt aus:

Kochsalz	0,5
Salzsäure	0,5
Spiritus	100,0
Dest. Wasser	20,0.

Kühne konnte gänzlich auf die Säure verzichten, wenn er die hochgradig farbstoffausziehende Wirkung des Malachitgrüns zu Hilfe nahm. Sein Verfahren ist (C. 11. 756):

Färbung in kaltem Karbolfuchsin 15 Minuten.

Abspülung in Wasser und Alkohol.

Konzentrierte Lösung von Malachitgrün in Anilinöl hellster Sorte.

Sehr dünne Schnitte entfärben sich dann in 2—3 Minuten,

dickere später, was man durch wiederholte Uebertragung in Terpentinöl verfolgen kann.

Abspülung in Anilinöl.

Terpentinöl — Xylol — Balsam.

Je länger die Schnitte im Terpentinöl verweilen, desto mehr schwindet die Malachitgrünfärbung. Man kann sie dann durch Färbung in wässriger Methylenblaulösung ergänzen, wenn man nicht vorgezogen hat, schon zu Anfang eine Vorfärbung mit Kernschwarz oder Karbolschwarzbraun zu machen.

In ähnlicher Weise lassen sich auch andre Bakterien in Schnitten zur Darstellung bringen.

Hauptsächlich für das Studium histologischer Verhältnisse der tuberkulösen Produkte bei gleichzeitiger Sichtbarmachung der Bazillen füge ich das Verfahren von Israel (B. 91. 8) an, das von ihm wegen einer bessern Darstellung der Kernteilungsfiguren, als sie mit andern Methoden gelingt, und wegen der Brillanz der Färbung, sowohl der Kerne, wie der Bazillen, angelegentlichst empfohlen wird:

Die kleinen Gewebstücke werden 1 Stunde in gesättigter Sublimatlösung fixiert und dann am besten mit dem Dialysator von F. E. Schultze in Alkohol gehärtet. Für feinere Schnitte (5—10 μ), wie sie für die Mitosenfärbung am geeignetsten sind, ist Paraffineinbettung und Aufklebung der Schnitte mit verdünntem Kollodium vorzuziehen und die ganze Färbung dementsprechend auf dem Objektträger mit grosser Einfachheit ausführbar:

Färbung in Böhmers Hämatoxylin 1—2 Minuten.

Abspülung in destilliertem Wasser.

Karbolfuchsin (bei Zimmerwärme) 3—5 Minuten.

Die übliche verdünnte Lugolsche Lösung 1 Minute (nicht länger!).

Anilinöl oder nachher Anilinöl-Xylol (2 : 1), bis keine Farbstoffwolken von dem Schnitte ausgehen.

Xylol. Xyloldamar.

Die ganze Färbung verläuft in höchstens 15—20 Minuten und gibt ausserordentlich kräftige Kontraste, während die Zellkörper blassrot und blassblau erscheinen, je nachdem die Hämatoxylinlösung länger oder kürzer eingewirkt hat.

Die Reinzüchtung der Tuberkelbazillen

ist zu diagnostischen Zwecken entbehrlich, weil die Färbung die Bazillen leicht erkenntlich macht, und der Tierversuch die unzweideutigsten Ergebnisse liefert. Wer aber bakteriologische Forschung betreibt, darf es keinesfalls unterlassen, seine Kunst an diesem, wenn auch nicht sehr schwierigen, so doch leicht misslingenden Stück zu erproben.

Am einfachsten kommt man zum Ziel, wenn man ein Tier (Meerschweinchen) mit tuberkulösem Auswurf oder Gewebe impft und nach der Tötung aus den innern Organen tuberkulöse Knötchen unter allen aseptischen Kautelen mit geglühter Pinzette (s. die Mäusesektion S. 165) entnimmt; man zerquetscht sie zwischen zwei frisch sterilisierten Glasplatten und streicht die Bröckchen auf schräg erstarrtes Glyzerin-

agar oder Blutserum in einer grössern Anzahl von Reagensröhrchen aus. Hammel- oder Rinderblutserum eignet sich am besten. Die Wattepfropfen werden oben gründlich abgesengt und mit Sublimatlösung betupft. Den lange gebräuchlichen Ueberzug mit einer Gummikappe hat Bonhoff als hinderlich für das Wachstum gefunden (H. 2. 1009). Die Gläser kommen in den Brutschrank, dessen Wärme auf 38⁰ eingestellt ist.

Nach 3—4 Tagen kann man auf den Serumflächen schon feinste Pünktchen wahrnehmen, die sich in der Folge zu trocknen, grauweissen Schüppchen vergrössern. Schneller und üppiger erfolgt die Entwicklung auf Glyzerinagar, in Form einer dicken faltigen Haut, so stark, wie man sie bei Heubazillen sehen kann. Auch das völlig klar bleibende Schwitzwasser bedeckt sich mit der Haut, die sich sogar noch einige Millimeter an der Glaswand in die Höhe schiebt. Die Virulenz scheint jedoch durch Glyzerinnährboden beeinträchtigt zu werden. Um die Züchtung möglichst in natürlichem Nährsubstrat vor sich gehen zu lassen, brachten Morpurgo und Tirelli tuberkulöse Organstückchen in kleine Kammern aus Celloidin, die durch Ineinanderschiebung von ungleich grossen Cylindern gebildet, Kaninchen unter die Haut oder besser in die Bauchhöhle einverleibt wurden. Hier füllten sie sich bald mit zellfreiem Serum, auf dessen Grund die Tuberkelbazillen Ansiedlungen in Gestalt kleiner weisser Flocken bildeten. Vielleicht lässt sich die Methode verwerten, um Kleinwesen zu züchten, die auf unsern künstlichen Nährboden nicht angehen (Cr. 13. 74).

Wie auf Glyzerinagar, so gedeihen die Tuberkelbazillen üppig auf Glyzerinbouillon — Bonhoff empfiehlt besonders Kalbslungenbouillon mit 4 % Glyzerinzusatz — nur muss man darauf bedacht sein, dass die Entwicklung auf der Oberfläche vor sich geht. R. Koch (D. 91. 1192) machte gelegentlich seiner Arbeiten über das Tuberkulin die Beobachtung, dass einzelne platte Stückchen der Bazillenkultur, die an der Oberfläche trocken waren und unbenetzt blieben, sich schwimmend erhielten und in üppigster Weise entwickelten. Sie bilden bei Brutschrankwärme von 38⁰ im Laufe von einigen Wochen an der Oberfläche eine sie vollkommen bedeckende, ziemlich dicke, oberwärts trockne und oft faltige Haut von weisslicher Farbe. Nach 6—8 Wochen ist das Wachstum beendet; die Haut fängt dann an, von der Flüssigkeit benetzt zu werden, und sinkt, in lappenförmige Stücke zerfallend, schliesslich unter. Der Ertrag einer solchen Kultur ist erheblich grösser, als der auf festem Nährboden erzielte (vgl. S. 236).

Bei gewissen Bouillon-, Glyzerinagar- und bei Eikulturen fanden Klein (C. 13. 905), sowie Fischel*) die Bildung verzweigter Fäden, ähnlich wie bei Mycelpilzen, denen sie Klein deshalb zurechnen wollte, während Fischel auf Grund der beobachteten Wachstumserscheinungen verwandtschaftliche Beziehungen mit dem Aktinomycespilz vermutet.

Dass der Tuberkelbacillus nicht bloss auf tierischen, sondern auch

---

*) Untersuchungen über die Morphologie und Biologie des Tuberkuloseerregers. Wien und Leipzig bei Braumüller 1893 und F. 10. 908.

auf pflanzlichen Stoffen fortkommt, zeigte Pawlowski (P. 2. 303), dem zuerst die Züchtung auf Kartoffeln in abgeschmolznen Röhrchen glückte; der Luftabschluss ist jedoch, wie Sander (A. 16. 238) hervorhob, eher hinderlich für sein Gedeihen. Während ferner Helman (H. 3. 361) eine Neutralisierung mit 0,5—1 % Sodalösung, oder eine Befeuchtung der Kartoffel mit einer Mischung von 4 Teilen Blutserums + 1 Teil 25 %igen Glyzerins vorschlug, konnte Sander feststellen, dass gerade ein gewisser Säuregehalt erforderlich scheint und dass der Tuberkelbacillus auf einer sauren Kartoffelbrühe üppig wächst. Diese durch Abgiessung und Durchseihung des Saftes der zerriebnen Kartoffeln gewonnene Brühe bedarf nur eines Zusatzes von 4 % Glyzerin vor der Sterilisierung. Für die Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem Tierkörper soll sogar die Kartoffel dem Glyzerinagar vorzuziehen sein; jedoch nimmt die Virulenz auf pflanzlichen Nährboden (Mohrrüben, Kohlrabi, Rettichen u. s. w.) ziemlich rasch ab.

Es ist nicht nötig, den erwähnten, zur Erzielung einer Reinkultur allerdings sichreren Umweg der Meerschweinchenimpfung zu machen, die Tuberkelbazillen können auch direkt aus dem menschlichen Körper gezüchtet werden. Am geeignetsten sind frische Leichen und zwar Herde, die weder von Fäulnisbakterien, noch von nebenher vorhandnen Krankheitserregern durchsetzt sind. Miliare Tuberkeln, namentlich des Gehirns (v. Wünschheim Cr. 12. 205) geben die meiste Aussicht auf Erfolg.

Vom Lebenden hat Koch die Tuberkelbazillen sowohl aus Lupusknötchen, wie aus dem Auswurf gezüchtet; hieraus auf folgende Weise (Kitasato Z. 11. 442):

Die Kranken werden angehalten, das durch wirkliches Husten, nicht durch Räuspern, des Morgens ausgestossne Sputum in sterilisierte Doppelschälchen zu entleeren. Es muss darauf sofort weiter verarbeitet werden. Eine als geeignet erscheinende, d. h. aus den tiefern Teilen der Atmungswege stammende Flocke wird mit sterilisierten Instrumenten herausgenommen und in mindestens zehn mit sterilisiertem Wasser gefüllten Doppelschälchen nacheinander sorgfältig gewaschen. Es gelingt so, nahezu alle beim Durchgang durch die Mundhöhle dem Auswurf beigemengten andern Bakterien wegzuspülen. Nun zerreisst man in dem letzten der Schälchen den Ballen unter sterilisiertem Wasser. Hat sich ein aus der Mitte entnommenes Teilchen nach Färbung und mikroskopischer Untersuchung als tuberkelbazillenhaltig gezeigt, so nimmt man ein zweites Flöckchen von derselben Stelle und bringt es auf Glyzerinagar oder Blutserum zur Aussaat. Die etwa angehenden Tuberkelbazillenreinkulturen erscheinen als kreisrunde, rein weisse, undurchsichtige Flecken, die sich über die Oberfläche des Agars erheben. Dabei sind diese Kolonien feucht, glänzend und glatt (fast wie die Kolonien der weissen Hefe) und stehen damit im Gegensatze zu den aus den Organen zu gewinnenden Tuberkelbazillenkolonien, die von Anfang an trocken, matt und gefaltet erscheinen. Diese Unterschiede verschwinden im Verlaufe einiger Wochen. Kulturen aus geschlossnen Lungenkavernen verhalten sich ebenso, was nicht anders zu erwarten, da das Sputum Kaverneninhalt ist. Bei derartigen Züchtungen machte Kitasato die Wahrnehmung, dass weit mehr Tuberkelbazillen unterm

Mikroskop zu sehen waren, als in der Kultur angingen, was, wie der Tierversuch bestätigte, seinen Grund darin hatte, dass die meisten im Sputum oder im Kaverneninhalt vorhandnen Tuberkelbazillen abgestorben waren.

Ein andres Verfahren zur Gewinnung der Reinkulturen von Tuberkelbazillen aus dem Auswurf hat Pastor (C. 11. 233) angegeben: Der Kranke muss sich Mund- und Rachenhöhle vor der Expektoration wiederholt mit sterilisiertem Wasser ausspülen und entleert dann seinen Auswurf in ein sterilisiertes Reagensglas. Das so gewonnene Sputum wird durch Aufschütteln in Wasser fein emulgiert und dann zur Entfernung von gröbern Teilchen durch feine Gaze filtriert (mehrmalige Abwaschungen in sterilisiertem Wasser wären geeigneter gewesen!). Von dem fast undurchsichtigen bazillenreichen Filtrat werden einige Tropfen mit verflüssigter Nährgelatine vermischt zu Platten ausgegossen. Nach 3—4 Tagen sind dann verschiedenartige Kolonien gewachsen. Die zwischen ihnen gelegne, keimfrei scheinende Gelatine wird mit sterilisiertem Messer herausgeschnitten und auf schräg erstarrtes Blutserum in Reagensgläser übertragen, die mit Gummikappen verschlossen in den Brutschrank kommen. Pastor erhielt in etwa 10 vom Hundert der Proben Reinkulturen von Tuberkelbazillen.

Erkennung von Begleitkrankheiten.

Die bakteriologische Untersuchung des Auswurfs erstreckt sich nicht allein auf die Feststellung einer tuberkulösen Erkrankung, und mit dem Nachweise von Tuberkelbazillen ist die Aufgabe des Untersuchers nicht erledigt. Durch die Forschungen von Babes u. a., namentlich aber von Cornet, Kitasato, Petruschky wurde man auf Begleitkrankheiten der Tuberkulose aufmerksam, die früher in ihrer schwerwiegenden Bedeutung viel zu sehr unterschätzt wurden. In erster Linie sind es da wieder die Kettenkokken, die die schweren und schwersten Zufälle hervorzurufen imstande sind. Allein 12mal unter 20 Fällen konnte sie Cornet (W. 92. 737) beim lebenden, wie beim verstorbnen Schwindsüchtigen in überwiegender Anzahl in der erkrankten Lunge und deren Absonderungen finden. Diesem Kleinwesen sind die so häufig beobachteten abendlichen Steigerungen der Körperwärme mit ihrem Abfall gegen Morgen meistens zur Last zu legen, so dass Koch jene grosszackige Fieberkurve kurz als Streptokokkenkurve bezeichnete; besonders deutlich wird sie, wenn der Eiter aus den Herden der Lunge keinen richtigen Abfluss hat. Wenn auch bei Petruschkys Untersuchungen die im Leichenmaterial der Phthisiker vorhandnen Streptokokken eine geringere Virulenz, als andre, z. B. die Erysipelkokken hatten, so kommt es doch vor, dass eine Verbreitung dieser Krankheitserreger in den Körper erfolgt, und aus der septischen Phthise eine allgemeine Septikämie wird.

Es ist nicht zu verwundern, wenn aus dem eitrigen Kaverneninhalt die bekannten eitererregenden Traubenkokken oder die Bazillen des grünen Eiters gezüchtet wurden; ausserdem aber ist man darin noch einer Anzahl andrer Bakterien begegnet, die meist gar noch nicht näher bestimmt oder als Krankheitserreger studiert sind; mehrfach waren

es Stäbchenarten. Ein andres, den tuberkulösen Prozess begleitendes Kleinwesen fiel zuerst Koch in den Kavernen der Phthisiker in Gestalt des Micrococcus tetragonus auf, das dann von Gaffky in Reinkulturen dargestellt und als pathogen für weisse Mäuse erwiesen wurde (Photogr. Taf. I Nr. 7). Wahrscheinlich ist es auch ein Krankheitserreger für den Menschen (S. 317). Weit wichtiger aber sind die Diplokokken und Kettenkokken, von denen Ortner eine Art häufig fand, die zwischen dem typischen Streptococcus pyogenes und dem typischen Diplococcus der Pneumonie mitten inne steht (Mr. 93. 1009).

Die Untersuchung geschieht in der nämlichen Weise, wie sie für die Züchtung der Tuberkelbazillen aus dem Auswurf von Koch angegeben und S. 371 beschrieben wurde, nur wird man lieber statt in Reagensgläser mit schräg erstarrter Gallerte, auf die Oberfläche von in Doppelschälchen ausgebreitetem Glyzerinagar impfen. Man benützt eine dreieckige Schleife aus dünnem Platindraht (Cornet), die gestattet, das Material recht gleichmässig über die Agarschichte zu verteilen, ohne sie einzureissen. Die Doppelschälchen werden dann mit dem Deckel nach unten unter eine Glasglocke in den Brutschrank gestellt.

Da wir uns der sichern Hoffnung hingeben dürfen, dass es den vereinigten unablässigen Bestrebungen gelingen wird, Methoden der Heilung und der Schutzimpfung auch gegen Kleinwesen aufzufinden, die nicht durch ihre giftigen Abscheidungen allein für Gesundheit und Leben verhängnisvoll werden, so ist der Erkenntnis der Ursache und des Zustandekommens von Krankheitserscheinungen fortdauernd die grösste Aufmerksamkeit zuzuwenden. In diesem Sinne nicht bloss, sondern auch im rein klinischen Interesse wird es ein aufmerksamer Beobachter und guter Diagnostiker nicht versäumen, in einschlägigen Fällen den Auswurf auch nach der hier gedachten Richtung hin untersuchen zu lassen, um dem Herantreten einer Sekundärinfektion rechtzeitig auf die Spur zu kommen, und eine wichtige Aufgabe der Hygiene bleibt es, durch Sorge für reine Luft und staubfreie Aufenthalts- und Wohnräume ihre Entstehung nach Kräften zu verhüten.

In gewisser Hinsicht wird die Behandlung durch diese Forschungen jetzt schon in die richtigen Wege geleitet, namentlich wenn die Frage der Zulässigkeit der Tuberkulinanwendung in Betracht kommt. Der Nachweis von andern Bakterien im Lungenauswurfe, das Bestehen einer Streptokokkenkurve sind Gegenanzeigen gegen die Tuberkulineinspritzung, „weil die in der Reaktion vermehrte seröse Durchtränkung der erkrankten Lunge die weitere Streptokokkeninvasion geradezu begünstigen kann“ (Koch, Petruschky). Es bleibt danach der Satz bestehen, dass die noch nicht vorgeschrittnen, von andern Krankheitserregern nicht begleiteten tuberkulösen Veränderungen die Angriffpunkte für die Tuberkulinbehandlung sind. Sie soll ein Weiterschreiten der Erkrankung, eine Bildung von Herden verhindern, von wo septische Infektionen ausgehen könnten.

Der Nachweis von Influenzabazillen im Auswurf

führt bei der Grippe ebenso sicher zur Diagnose, wie der Kochsche Bacillus bei der Tuberkulose, wenn auch nicht so leicht, und für den

minder Geübten nicht so in die Augen fallend, weil keine so spezifische Färbungsmethode angewendet werden kann.

Der Nachweis der von R. Pfeiffer entdeckten Influenzabazillen*) ist, wenn man schon mehrere Fälle untersucht hat, durch die Färbung allein möglich, weil diese Kleinwesen in dem hellgelblich-grünen, zähen und geballten, aus der Tiefe der Lungen herkommenden, frischen Auswurf ausser durch ihre Gestalt, durch die Massenhaftigkeit ihres Vorhandenseins und ihre Lagerung auffallen; in den ersten, verdächtigen Fällen aber, worüber die Entscheidung gefordert wird, soll jedenfalls die Kultur zu Hilfe genommen werden, da sie ganz bestimmte Eigentümlichkeiten bietet. Die Influenzabazillen gedeihen nämlich nur auf künstlichen Nährboden, wenn Blut oder Hämoglobin (Serum allein genügt nicht!) zugegen ist. Der Blutagar wird nach der S. 84 gegebnen Anweisung durch Aufstreichungen von Bluttröpfchen oder von Hämoglobin vom Menschen oder von Tauben vorbereitet. Gleichzeitig ist die Aussaat auf gewöhnlichen Agar oder Glyzerinagar erforderlich, um sich zu überzeugen, dass von dem Aussaatmaterial wirklich nur auf dem Blutagar zahlreiche Kolonien aufgehen**). Den Tierversuch anzuschliessen, ist wünschenswert, aber nicht unbedingt notwendig.

Zur Färbung wird ein aus der Mitte des frisch ausgehusteten, charakteristischen Auswurfes entnommenes Eiterteilchen mit einem Platindraht vorsichtig, unter möglichster Schonung der zelligen Elemente ausgestrichen, dann lässt man lufttrocken werden und zieht dreimal durch die Flamme, ohne zu sehr zu erhitzen. Am geeignetsten erwies sich eine bis zum blassroten Aussehen mit destilliertem Wasser verdünnte Karbolfuchsinlösung; sie muss, da die Influenzastäbchen den Farbstoff ziemlich schwer annehmen, mindestens 5—10 Minuten einwirken. Man kann auch mit unverdünntem Karbolfuchsin färben und durch flüchtige Eintauchung in verdünnten Spiritus die Ueberfärbung beseitigen (Photogr. Taf. IV Nr. 25).

Nach Abspülung und Trocknung findet man bei der Untersuchung mit der Oelimmersion in frischen, nicht komplizierten Fällen eine einzige, wohl charakterisierte Bazillenart in fast vollständiger Reinkultur und in erstaunlicher Anzahl. Die Stäbchen liegen meist nester- und häufchenweise in der schleimigen Grundsubstanz des Sputums. Einen mehr oder weniger grossen Teil der Gesamtmenge findet man jedoch auch im Protoplasma der Eiterzellen, wo sie sich um den Kern herum gruppieren, ohne jemals in die Kernsubstanz selbst einzudringen.

Die Stäbchen sind nur 2—3mal so lang wie breit und so dünn, dass sie selbst den Durchmesser der zarten Mäuseseptikämiebazillen

---

*) R. Pfeiffer, Z. 13. 357. R. Pfeiffer und Beck, D. 92. 465.

**) Der schwierig zu bereitende Blutagar lässt sich nach Huber (Z. 15. 454) durch Agar mit Zusatz eines käuflichen Hämoglobinpräparates ersetzen, des Hämatogen (Dr. Hommel). Beide Teile, der Nähragar und das Hämoglobin werden einzeln im Dampfe sterilisiert; das Hämoglobin unter Zugabe von Kalilauge bis zur stark alkalischen Reaktion, wodurch seine Gerinnung vermieden wird. Ist der Agar bis auf 50—60° abgekühlt, so gibt man in jedes Röhrchen 0,5 ccm der Hämoglobinlösung mit einer sterilisierten Pipette. Bei höherer Hitze würde infolge der Verminderung der Alkaleszenz durch die Verdünnung wiederum Gerinnung eintreten. Das Wachstum der Influenzabazillen ist auf diesem Nährboden zwar langsamer — es dauert oft 3, selbst 10 Tage bis es wahrnehmbar wird — aber die Kleinwesen halten sich länger lebensfähig, als auf Blutagar.

kaum erreichen. Ihre Enden sind abgerundet. Häufig findet man zwei besonders kurze Bazillen dicht aneinander gelagert. Bei etwas schwacher Färbung sieht man manchmal die Mitte weniger gefärbt, als die Endpole, was zu einer Verwechslung mit Diplokokken Veranlassung geben kann. Bei Gramscher Behandlung entfärben sie sich.

Wenn der in geringer Menge entleerte Auswurf zahlreiche andre, die Sicherheit des Nachweises beeinträchtigende Bakterien aufweist, so lässt sich unter Umständen die Diagnose durch die Untersuchung der Schleimhautabsonderung des Nasenrachenraumes stellen (Huber).

Während im Auswurf von frischen Fällen nur wenige Bazillen in den Eiterzellen enthalten sind, nimmt bei fortschreitender Krankheit die Anzahl der freien Influenzabazillen ab, dafür erscheinen die Eiterzellen mit feinen, das Protoplasma in dichten Schwärmen füllenden Stäbchen geradezu vollgestopft.

Während der Wiedergenesung erscheint die überwiegende Mehrzahl im Innern der Eiterzellen. Die Bazillen lassen dann vielfach Entartungserscheinungen erkennen, sind aussergewöhnlich schmal, färben sich schlecht und zerbröckeln in feinsten molekularen Detritus (Züchtungsversuche sind dann ohne Erfolg). Die Absonderung des bezeichnenden Auswurfs kann den Fieberanfall tage- sogar wochenlang überdauern.

Bei chronischer Influenza, die sich bei Schwindsüchtigen gerne einnistet, finden sich neben den Tuberkelbazillen zahllose Influenzastäbchen.

Im Blute werden sie nicht angetroffen. In den innern Organen ausser in den Lungen nur ausnahmsweise und vereinzelt.

Schnittpräparate aus den Lungen werden mindestens ½ Stunde in der stark (10—20fach) verdünnten Karbolfuchsinlösung gefärbt, dann in ganz schwach mit Essigsäure versetzten Alkohol übertragen. Hier müssen sie sorgfältig überwacht werden. Sobald die ursprünglich fast schwarzrote Färbung in einen eigentümlichen, rotvioletten Farbton abgeblasst ist, werden sie sofort in Xylol aufgehellt.

Zur Züchtung wird der ganz frische, in sterilisierte Schalen ausgehustete bronchiale Auswurf oder Saft aus bronchopneumonisch infiltrierten Lungenpartien von an Influenza-Pneumonie Verstorbenen mit 1—2 ccm Bouillon in sterilisierter Schale fein verrieben, bis eine gleichmässige, nur leicht getrübte Emulsion entsteht. Davon wird auf Blut- oder Hämoglobinagar, ferner zur Kontrolle auf gewöhnlichen oder Glyzerinagar übertragen und die Aussaat auf der ganzen Oberfläche des in Doppelschälchen befindlichen Nährbodens gleichmässig verteilt, dann werden die Schälchen mit dem Deckel nach unten unter ein Becherglas in den Brutschrank gesetzt, da bei Zimmerwärme ein Wachstum überhaupt nicht erfolgt. Nach 24 Stunden wird man auf dem Blutagar die Ansiedlungen der Grippebakterien als dicht gedrängt stehende, wasserhelle, besser mit der Lupe erkennbare Tröpfchen finden, während die Kontrollröhrchen entweder steril blieben oder nur vereinzelte Ansiedlungen von andern, neben den Influenzabazillen vorhanden gewesenen Keimen, gewöhnlich Streptokokken oder lanzettförmige Diplokokken enthalten.

Die Kolonien haben nur geringe Neigung, zusammenzufliessen; sie thun es nur, wenn sie sehr dicht stehen. Haben sie sich in Abständen getrennt entwickeln können, so werden sie fürs blosse Auge leichter sichtbar und können selbst die Grösse eines kleinen Stecknadelknopfes erreichen. Stets aber bleiben sie glasartig durchscheinend und lassen selbst unterm Mikroskop keine oder fast keine Struktur erkennen.

Bei Züchtungen in Röhrchen bleibt vorhandnes Schwitzwasser klar; wenn aber Blut hineingeflossen ist, siedeln sich die unbeweglichen Influenzabazillen darin in Form zarter, weisser Flocken an.

In einer mit Blut vermischten Nährbouillon kommt es zu ziemlich reichlichem Wachstum, wenn sie in sehr dünner Schichte ausgebreitet ist; denn die Grippebakterien sind sehr sauerstoffbedürftig.

Der Höhepunkt der Entwicklung ist (im Taubenblut) schon nach 20 Stunden erreicht. Nach 3—4 Tagen lassen die Bazillen bereits Entartungserscheinungen erkennen und können ganz lange Scheinfäden bilden. Sporen fehlen ihnen. Deshalb gehen sie beim Austrocknen ausnahmslos zu Grunde und zwar rasch, schon nach 20 Stunden. In den feuchten Kulturen aber können sie mindestens 14 Tage lebensfähig bleiben.

Der Tierversuch ergibt nur beim Affen infektiöse Wirkung. Von andern Tieren reagiert zwar das Kaninchen, aber nicht mit Infektion — denn die eingebrachten Keime werden in seinem Körper vernichtet — sondern mit Vergiftungserscheinungen: 2—3 ccm einer 24stündigen Bouillonkultur tötet die Kaninchen, 1 ccm ruft auffallende Muskelschwäche und Fieber hervor, die schon nach 1½—2 Stunden auftreten, doch erholt sich das Tier bald wieder. Dieselben Ergebnisse kann man auch mit Kulturen erzielen, in denen die Keime durch Chloroform vernichtet sind. Mäuse erlagen einer Einspritzung von ⅓ ccm der Kultur in die Bauchhöhle.

Pseudoinfluenzabazillen scheinen in gewissen Fällen von Bronchoblennorrhoe und bei bronchopneumonischen Affektionen, besonders des Kindesalters, eine wichtige Rolle zu spielen. R. Pfeiffer fand sie bei drei tödlich endigenden Fällen von Bronchopneumonie als Komplikation bei diphtheriekranken Kindern.

Im Ausstrichpräparat glichen sie fast vollkommen den feinen Influenzastäbchen, waren aber doch im Durchschnitt etwas grösser. Auch in Kulturen zeigten sie das Verhalten der Grippeerreger und kamen, wie diese, nur bei Blutzusatz fort. Aber die mikroskopische Untersuchung der 24 Stunden auf Blutagar gewachsnen Bazillen ergab insofern Unterschiede, als die Pseudoinfluenzabazillen erheblich grösser waren und ausgesprochne Neigung zur Bildung von Scheinfäden zeigten.

Lungenabscesse und Lungengangrän

können der Ausgang von Grippe sein, die nicht in vollständige Heilung oder nicht mit Induration und Karnefikation, also mit Umwandlung der infiltrierten Lungenherde in narbiges Bindegewebe endigt.

Die Untersuchung von Lungenabscessen und brandigen Stellen wird nach denselben Regeln vorgenommen, wie sie für die Erforschung der Ursache von tiefer liegenden, nicht mit der Aussenwelt in Verbindung stehenden Eiterherden (in der Leiche), oder von nach aussen führenden Kavernen (des Lebenden oder der Leiche) einerseits, für die Erkennung der Influenzabazillen andrerseits massgebend sind.

Was die zu erwartenden Befunde anbetrifft, so können in Lungenabscessen wohl noch die Influenzabazillen nachweisbar sein, wie das auch in eitrigen Auflagerungen auf dem Brustfell festgestellt wurde. Bei andern und namentlich bei nicht nach Grippe entstandnen Abscessen können die verschiedensten Eitererreger im Spiele sein; Cohn fand bei Lungenabscess einen dem Friedländerschen ähnlichen Bacillus (D. 93. 804).

Bei Lungengangrän, die R. Pfeiffer als Ausgang und Todesursache bei Grippe fand, waren in den betreffenden Herden Bakterien der mannigfachsten Art nachweisbar, grosse und kleine Stäbchen, Kokken, Spirochäten und Kommabazillen, die ganz den bekannten Mundhöhlenbewohnern glichen, während Influenzastäbchen in Lungenherden gesehen wurden, die von der brandigen Stelle weitab lagen. Sehr wahrscheinlich, schliesst R. Pfeiffer, ist demnach in diesen Fällen die Ursache der Gangränbildung in sekundärer Infektion durch aspirierte Mundspeichelbakterien zu suchen, die ihrerseits auf dem Boden der Influenzainfiltration die Bedingungen ihrer Weiterwucherung fanden.

In gleicher Weise werden wir nicht fehlgehen, auch die tierischen Kleinwesen, die man bei andern Fällen von Lungengangrän beschrieb, als nachträgliche Einwanderer zu betrachten, die weder in einem ursächlichen Zusammenhang mit der Krankheit stehen, noch in diagnostischem Sinne verwertet werden können, wenn sie auch ein gewisses Interesse beanspruchen. Kannenberg (V. 75. 471) und Litten fanden Monaden im Sputum, Streng begegnete in den fötid riechenden gelblichen Pfröpfen des Auswurfes ausser massenhaften Bakterien Infusorien, ovalen, scheinbar strukturlosen Zellen, etwa von der Grösse eines farblosen Blutkörperchens und darunter, die mit Geisselfäden versehen waren und in Bouillon sogar zur Vermehrung geschritten sein sollen. Als Färbemittel bewährte sich die Lugolsche Lösung, die mit etwas alkoholischer Jodlösung bis zur dunkelbraunen Färbung versetzt war (F. 10. 757).

Die Untersuchung des Auswurfs von Keuchhustenkranken

nach einem den vorgenannten ähnlichen Verfahren hat J. Ritter unternommen. Er fand darin Diplokokken von ausserordentlicher Kleinheit. Zu diesem Zwecke musste so lange gewartet werden, bis der Hustenanfall der kleinen Patienten mit der Hervorstossung eines geballten Bronchialsputumklumpens beendigt war. Dieser Klumpen wurde in der früher angegebnen Weise behandelt und gewaschen; nur hat Ritter dabei noch folgende Abänderung getroffen:

Die schon bei oberflächlichster Beobachtung erkennbaren, milchweiss gefärbten „Linsen“ werden ausgesucht und von dem sie um-

gebenden, aus Kehlkopf und Luftröhre stammenden Schleim befreit. Dieser wird mit einem Platinhaken abgezogen und das Verbindungsstück zwischen Linse und dem entstehenden Schweif mit glühendem Skalpell abgebrannt. Das mit dem Platindraht aufgehakte linsenähnliche Stück wird nun mit einem kräftigen Wasserstrahl abgespült, wobei Obacht zu geben ist, dass es nicht von der Platinnadel abgleitet. Dann wird die Linse von neuem in sterilisiertem Wasser ausgewaschen und schliesslich auf der Oberfläche von Nähragar (ohne Zusatz von Zucker oder Glyzerin) ausgestrichen. Im Brutschrank wachsen die Ansiedlungen der gedachten Diplokokken binnen 24 Stunden und zeichnen sich durch ihr eigenartiges, festes Gefüge aus, so dass es nicht gelingt, Teilchen von ihnen zu entnehmen; es muss immer die ganze Kolonie, zumeist sogar mit einem kleinen Stückchen des Nährbodens zusammen abgenommen werden. Versuche an Menschen und Tieren führten zu keinem befriedigenden Ergebnis (B. 92. 1276; D. 93. 1136).

Trotzdem sind diese Kleinwesen wahrscheinlich die Ursache des Keuchhustens. Ihr Nachweis und der Befund der Linsen kann auch bei Hustenanfällen Erwachsner, die bisweilen von dieser Krankheit befallen werden, diagnostischen Aufschluss gewähren.

Der Nachweis des Strahlenpilzes im Auswurf

gelingt allein schon durch die mikroskopische Untersuchung im ungefärbten Präparat (S. 330), wenn man die mit dem Auswurf von einem Aktinomycesherd aus zu Tag geförderten, eigentümlichen gelben Körner und Klümpchen zerdrückt.

Ich erhielt einmal von auswärts den Auswurf eines Mannes, der mit Pferden zu thun hatte, zugeschickt, da er an einer Krankheit litt, die damals nicht diagnostiziert, aber verdächtig auf Aktinomykose war; weiteres brachte ich nicht mehr in Erfahrung. Das Sputum enthielt in reichlichstem Masse kleine gelbliche Kügelchen. Soviel ich aber darin nach Strahlenpilzen suchte, umsonst. Wohl waren vielfach sich kreuzende, mycelähnliche Gebilde zu sehen; sie lösten sich aber bei starker Vergrösserung in verfilzte Fäden auf, die auf Zusatz von leicht angesäuerter Jodtinktur eine violette Farbe annahmen, somit jedenfalls der Mund- oder Rachenhöhle entstammten, wo die betreffenden Kleinwesen — es handelte sich wahrscheinlich um Bacillus maximus buccalis, Miller — in irgendwelchen lakunären Stellen in solchen Massen zur Entwicklung gekommen waren.

In der Litteratur finden sich Fälle unter dem Namen **Pharyngomykosis leptothricia** beschrieben (Decker und Seifert*), bei denen im Rachen selbst (Chiari Cr. 3. 662, Stern M. 93. 381) oder im Auswurf jene gelblichen oder weisslichen Klümpchen in grösserer Zahl mit büschelförmigen Fäden im Innern gefunden wurden.

Auch vom Gesunden werden mitunter derartige schlüpfrige, beim Zerdrücken breiige, äusserst übelriechende Klümpchen ausgehustet. Nicht immer findet man darin die büschelförmigen Fäden, sondern nur eine Unmasse Bakterien von Kokken-, meist aber Stäbchenform.

---

*) Verhandlungen der physikalisch-medizinischen Gesellschaft zu Würzburg 1888.

Der Nachweis von Kapselkokken im Auswurf

zur Erkennung der kroupösen Lungenentzündung ist nicht einwandfrei zu verwerten, auch selten notwendig, denn einerseits kommen dieselben Kokken im Speichel vieler Gesunden vor, andrerseits zeigt meist das bronchiale Sekret der Kranken so charakteristische Merkmale, dass aus seiner zähen, überaus klebrigen Beschaffenheit und aus seinem rötlichgelben, rostfarbigen Aussehen allein der Arzt in den meisten Fällen die Diagnose zu stellen vermag, die durch die physikalische Untersuchung und die Beobachtung des Fieberverlaufs erhärtet wird.

Die Merkmale der Kapselkokken, d. h. der A. Fränkel-Weichselbaumschen Pneumoniekokken, deren ursächliche Rolle bei der kroupösen Lungenentzündung zweifellos ist, habe ich schon früher (S. 324) ausführlich dargelegt. Es erübrigt nur noch, der mehrfach erwähnten Friedländerschen Kapselbakterien zu gedenken, die eine Zeitlang als die Erreger dieser verbreiteten Infektionskrankheit angesehen wurden. Auch sie kommen in der Mundhöhle vor und vermögen von da aus nach verschiednen benachbarten Orten zu gelangen, bis hinab in die Bronchien, wo sie sich im wenig widerstandsfähigen Körper als sekundäre Parasiten ansiedeln können.

Ihre Unterscheidung von den andern Kapselkokken ist leicht. Einmal sind sie keine Kokken, sondern Kurzstäbchen und wesentlich grösser als jene, aber wie sie, von einer Kapsel umgeben, die sie im künstlichen Nährboden verlieren (nur in Milch sollen sie sie behalten). Sie nehmen die Anilinfarben ebenfalls leicht auf, lassen sie aber bei der Gramschen Behandlung wieder fahren. Ihre Züchtung gelingt bereits bei Zimmerwärme unter 22° auf Nährgelatine; ohne sie zu verflüssigen, bilden sie kuppenförmig erhabne Ansiedlungen, wodurch die Gelatinestichkultur ein mehr oder weniger nagelförmiges Ansehen erhält. Fürs Kaninchen, ein ausserordentlich empfängliches Versuchstier gegenüber den Kapselkokken, erweisen sie sich unschädlich; Mäuse reagieren ebenfalls nicht, wenn man sie mit den Bakterien unter die Haut impft, aber nach Einspritzung verhältnismässig grosser Gaben in die Brust- oder Bauchhöhle, sowie nach Einatmung verstäubter Kulturen gehen sie zu Grunde.

Eine Farbenreaktion des Auswurfs möchte ich hier noch erwähnen, da sie bei Sputumuntersuchungen von Interesse ist, und sich auch diagnostisch verwerten lässt. Nach A. Schmidt werden Schnitte durch gehärtete Sputa mit Ehrlichscher oder Biondischer Dreifarbenmischung behandelt; pneumonische Sputa werden dann rot, bronchitische grün oder grünblau. Diese verschiedenartige Färbung betrifft nicht die Zellen, sondern die Zwischensubstanz, die bei diesen Sputis die Hauptmasse ausmacht. Der pneumonische Auswurf ist sehr reich an Eiweiss, der bronchitische sehr reich an Mucin, es liegt also nahe, anzunehmen, dass das Eiweiss mit dem Fuchsin, das Mucin hingegen mit dem Methylgrün der Ehrlichschen Mischung in Verbindung tritt (D. 93. 530). Zu seinen vergleichenden Untersuchungen benützte A. Schmidt die von Grübler in Leipzig hergestellte Biondische Dreifarbenmischung, ein hellbraunes Pulver, das sich im Verhältnis von 1 : 30 im destillierten Wasser löst. Von dieser Stammlösung gibt man 3 Tropfen in ein bis zu $^2/_3$ mit destilliertem Wasser gefülltes Reagensglas, so dass die Sputumbestandteile, gegen das Licht gehalten, eben durchschimmern. Die umständlichere Schnittanlegung lässt sich durch folgendes einfachere Verfahren ersetzen, wobei die Farbenreaktion an den fein verteilten Sputumteilchen mit blossem Auge erkannt werden kann:

Ein erbsen- bis bohnengrosses Stück des Auswurfs wird in einem zur Hälfte mit $2\frac{1}{2}$%igem Sublimatalkohol gefüllten Reagensglase so lange (bis zu 5 Minuten) kräftig geschüttelt, bis sich der Ballen in feinste Fäserchen oder Flocken aufgelöst hat. Dann lässt man absetzen, giesst den Alkohol vom Bodensatz ab und füllt das Reagensglas zu $\frac{2}{3}$ mit destilliertem Wasser, worin man die Flocken vorsichtig mischend verteilt. Gibt man nun 3 Tropfen der erwähnten Stammlösung hinein, so ist die Färbung in 3—6 Minuten beendigt. Man hat nur zu sorgen, dass die Flocken nicht zu schnell zu Boden sinken. Danach werden sie mit destilliertem Wasser mehrmals gewasehen (B. 93. 225).

Magen- und Darminhalt.

Im Inhalte des Magens finden sich die mit Speisen und Getränken eingeführten Kleinwesen, Bakterien, Sarcine, Hefen und Schimmelpilze. Sarcine hat man bei Magenerweiterung als bezeichnend für die Erkrankung angesehen. Wenn nun auch bei längerm Verweilen des Speisebreies im Magen eine Keimvermehrung statthaben wird, so ist doch damit nicht gesagt, dass man Sarcine bloss bei Magenerweiterung finden müsse. Thatsächlich trifft man sie auch nicht selten im Mageninhalt an, nur nicht so reichlich, wie es bei jenem Uebel der Fall ist.

Vor jeder Untersuchung von Mageninhalt ist seine Reaktion festzustellen, zumal wenn grössere Mengen zur Aussaat genommen werden müssen, wie das beim Nachweise der Cholerabakterien der Fall ist. Eine etwa vorhandne, der Keimentwicklung hinderliche Säure muss durch vorsichtigen Alkalizusatz abgestumpft werden. Im übrigen gelten dieselben Regeln wie für die bakteriologische Untersuchung von Darminhalt.

Bei allen von auswärts zur Untersuchung einlaufenden Proben versäume man nie, herauszubekommen, ob dem Stuhl oder dem Erbrochnen nicht etwa keimtötende oder entwicklungshemmende Mittel zugesetzt sind, wie es vom Wart- und Pflegepersonal nicht selten geschieht, weil es nicht begreift, dass also behandelte Massen zu Züchtungsversuchen vollständig ungeeignet werden. Namentlich Phenol und Sublimat kommen hier in Betracht. Karbolsäure erkennt man am Geruch und durch die Eisenchloridreaktion, das Vorhandensein von Sublimat wird am besten in der Weise herausgebracht, dass man einen Teil der Flüssigkeit mit Salpetersäure ansäuert und einen Streifen blanken Kupferblechs, für einige bis 24 Stunden, hineinlegt; bemerkt man danach einen grauen Anflug, so spült man mit Wasser ab, reibt das Blech trocken und wirft es zusammen mit einigen Kryställchen Jod in ein trocknes Reagensglas. Bei vorsichtiger Erhitzung am untern Ende sublimiert am kalten Teil des Glases gelbes Merkurijodid.

Zur bakteriologischen Untersuchung lege man sofort eine Aussaat auf Gelatineplatten, bei Verdacht auf Cholera auch eine solche in Peptonwasser (S. 398) an, gleichzeitig nehme man eine Untersuchung im ungefärbten Präparat und eine weitere im gefärbten Ausstrich vor.

Zur Trennung der verschiednen Bestandteile für die mikroskopische Durchmusterung empfahl Herz (Cr. 12. 769) die Anwendung der Zentrifuge. In den mit Wasser verdünnten Stühlen schichtet sich

dabei oben eine trübe, von Bakterien wimmelnde Flüssigkeit, dann folgen Massen unverdauter Zellulose, ein Ring quergestreifter Muskelfasern und endlich zu unterst in gesonderten Schichten Rundzellen, Clostridien, Stärke u. s. w.

Man hat die Ansicht geäussert, der Kot enthalte vornehmlich Stäbchen, die wegen ihrer grössern Widerstandskraft den sauern Magensaft zu durchwandern vermöchten, während sporenfreie Bakterien, insbesondre Mikrokokken dieses Hindernis selten lebend überwänden. Das hat sich aber bald als irrig herausgestellt. Miller z. B. konnte sämtliche in der Mundhöhle nachgewiesnen Bakterien im Darme wieder finden. Bei der Untersuchung diarrhoischer Entleerungen hat man Gelegenheit, denselben Spirillen zu begegnen, wie sie im Zahnbelag so häufig sind. Sie kommen auch im normalen Stuhl vor, doch, wie es scheint, weniger reichlich; wohl deshalb, weil diese Kleinwesen ihren Sitz im Darmschleim haben, der bei reichlicher Dejektion in grösserer Menge entleert wird.

Die im Darm vorhandnen Bakterien sind bei der Zersetzung und Vorbereitung der Speisen für die Verdauung wesentlich mit beteiligt, und werden mit ihnen eingeführt. Ehe das geschieht, ist der Darm keimfrei, wie jedes andre Organ. Escherich*), der sich der Erforschung der Darmbakterien zuerst widmete, fand das Mekonium der Neugebornen, wie zu erwarten, steril. Wenn aber mit dem Beginne des extrauterinen Lebens den Bakterien Gelegenheit gegeben ist, mit der Luft und namentlich mit der Nahrung in den Mund des Kindes einzudringen, währt es auch nicht lange, bis sie den Verdauungskanal durchsetzt haben. 3—7 Stunden nach der Geburt lassen sich, leichter durch die Kultur, als mit dem Mikroskop, bereits einige Kokkenformen (grosse Diplokokken), manchmal auch vereinzelte Hefezellen, nachweisen. Nach 18 Stunden war eine nun auch mikroskopisch leicht nachweisbare Bakterienentwicklung (kurze Stäbchenformen) erfolgt, von da ab nahm die Vermehrung immer zu bis zur Ausstossung des Mekoniums. Mit dessen Ersatz durch den Milchkot am 2. oder 3. Lebenstag änderte sich dann die Flora des Darmtraktus wesentlich; bei mikroskopischer Besichtigung machten die aus dem Milchkot entnommenen Präparate den Eindruck, als handelte es sich bloss um eine einzige Stäbchenart, die Kultur dagegen erwies das Vorhandensein verschiedener Arten, wovon sich aber zwei als in besonders enger Beziehung zu den Gärungsvorgängen stehend, als „obligate Darmbakterien" herausstellten, nämlich das Bacterium lactis aërogenes und das Bacterium coli commune.

Die Methode der Gewinnung war folgende:

Eine kurze bleierne Röhre, wie sie als Ansatz an Klystierspritzen gebräuchlich ist, wird in einem mit Watte verschlossnen Reagensglase im Dampf sterilisiert und an den Ort der Entnahme gebracht. Hier wird die Analöffnung des Kindes mit Wasser und Sublimatlösung gut gereinigt und dann die Röhre eingeführt. Das ist in den meisten Fällen ausreichend, um eine spontane Entleerung des Kotes herbeizuführen:

---

*) Die Darmbakterien des Säuglings und ihre Beziehungen zur Physiologie der Verdauung. Stuttgart bei F. Enke. 1886.

nötigenfalls lässt sich durch tiefere Einschiebung des Röhrchens und durch leichte drehende Bewegungen reflektorisch eine peristaltische Welle im Dickdarm hervorrufen, und nur in seltnen Fällen führt das Verfahren nicht zum gewünschten Ziel. Danach wird das Röhrchen mit seinem Inhalt rasch ins sterilisierte Reagensglas, das bisher immer mit dem Wattepfropfen verschlossen war, zurückgebracht und an die Untersuchungstelle verbracht.

Bei Leichen, die möglichst frisch sein müssen, werden die zu untersuchenden Darmabschnitte doppelt unterbunden dem Körper entnommen, unmittelbar vor der Mikroskopierung mit 10%iger Sublimatlösung abgespült, mit geglühten Instrumenten eröffnet, und das Aussaatmaterial womöglich aus dem Speisebrei entnommen.

Was die beiden am häufigsten gefundnen Bakterienarten betrifft, so stellt das **Bacterium lactis aërogenes** auf der Nährgelatineplatte rasch wachsende, hier Kuppen, im Stich nagelförmige Kulturen bildende Kurzstäbchen mit abgerundeten Enden dar, die im hängenden Tropfen unbeweglich sind und nach Gram entfärbt werden. Sie vergären Milchzucker zu Milch- und Essigsäure (Baginsky). Ihre pathogene Wirkung aufs Tier ist die gleiche wie beim

Bacterium coli commune. Stäbchen von wechselnder Grösse mit träger Eigenbewegung, ebenfalls die Gelatine nicht verflüssigend. Die tiefliegenden Kolonien sind kleiner, wie beim vorigen, auch heller, durchsichtig, und zeigen manchmal radiär strahlige Zeichnung oder eine eigentümliche Scheidung in eine hellere, homogene Peripherie und ein dunkleres, unregelmässig gezeichnetes Zentrum. Kommen sie an die Oberfläche, so breiten sie sich dort mehr oder weniger weit aus und können, wenn Raum zur Verfügung steht, einen Durchmesser von 3—4 cm erreichen. In allen Fällen stellt sich die Ausbreitung als weisse, deutlich sichtbare (irisierende) Decke von trockner Oberfläche dar mit runder oder häufig unregelmässig gebuchteter und gezackter Kontur. Die Dicke nimmt nach dem Rande zu ab, in der Mitte ist häufig ein den Ausgangspunkt markierender Nabel. Ausserdem trifft man noch Ansiedlungen, die ein dichteres, saftigeres Wachstum und schon makroskopisch eine konzentrische Anordnung erkennen lassen. Die individuellen Verschiedenheiten der Kolonien vermehren sich noch bei der Betrachtung mit schwacher Vergrösserung. Die Oberfläche erscheint bald rissig, zerklüftet, von einem zarten, homogenen Saum umgeben, bald von moiréeartig angeordneten, zierlichen Linien durchzogen, dann wieder radiär, wie von einem Scheitel ausstrahlend oder mit mäanderartiger Zeichnung des Randes. In manchen Kolonien trifft man sternförmige Figuren und konzentrische, sie umgebende Ringe; endlich, und nicht am seltensten ist die Oberfläche einfach homogen gekörnt.

Bei der Kultur im Reagensglase zeigt sich bald eine zarte, kaum sichtbare Decke, bald eine dichtere, mit blattartig gezahntem Rande, manchmal mit Andeutung konzentrischer Ringe und mit Inkrustationen. In allen Fällen ist sie seitlich vom Stichkanal ausgebreitet, von trockner, matter Oberfläche, niemals saftig glänzend oder vorgewölbt. Nicht selten entstehen wolkige Trübungen der Gelatine in ihren obern Schichten und einzelne Gasblasen, namentlich bei der ersten oder zweiten aus dem Körper gezüchteten Generation.

Auf Kartoffeln bildet sich binnen etwa 6 Tagen ein 3—4 mm dicker, saftig glänzender Belag aus, der nach dem Alter der Kartoffeln wechselt.

Mäuse erkranken bei Impfung unter die Haut nicht. Meerschweinchen und Kaninchen sterben nach Einspritzung auch kleiner Mengen in die Blutadern mit Erscheinungen heftigen Darmkatarrhs, mit markiger Schwellung und oberflächlichem Epithelverlust der Plaques, stellenweisen Hämorrhagien, bei Einspritzung grössrer Mengen auch mit seröser Ausschwitzung des Bauchfells.

Ich habe diese erste Schilderung Escherichs fast im Wortlaute und ohne Zusätze wiedergegeben, obwohl sie sich durch die seitdem erschienenen vielfachen Veröffentlichungen leicht hätten vermehren lassen.

Immer mehr hat es sich herausgestellt, dass das, was man Bacterium coli zu nennen pflegt, keine einheitliche Bakterienart ist, sondern dass viele ähnliche Arten im Darminhalte gefunden werden, die unter sich gleichbleibende, wenn auch nicht besonders grosse Abweichungen darbieten. Kiessling (H. 3. 724) hat sich der dankenswerten Aufgabe unterzogen, alles, was über dieses Bacterium bis zur Mitte des Jahres 1893 erschienen ist, in einer übersichtlichen Abhandlung zusammenzustellen. Ihre Durchsicht lässt erkennen, in wie mannigfachen Punkten die Angaben von einander verschieden sind. Nur einige seien hervorgehoben:

Das Bacterium verdankt seine Eigenbewegung nach Dunbar zahlreichen langen, welligen, nach Chantemesse und Widal 4—6, nach L. Luksch 1 bis höchstens 3 Geisselfäden. Es ist nach Smith und v. Sommaruga ein Alkalibildner, nach Petruschky bildet es selbst in physiologischer Kochsalzlösung (nicht bloss in zuckerhaltigen Medien) Säure. Kitasato erhielt in Kulturen des Kolibakteriums durch Zusatz von Kaliumnitritlösung und Schwefelsäure die Indolreaktion, Baginsky und Dunbar erklären die Indolreaktion für nicht vorhanden. Da wir nicht annehmen können, dass die genannten Forscher falsche Beobachtungen verzeichnet haben, so bleibt keine andre Deutung übrig, als die, dass sie bei verschiednen Befunden andre Bakterienarten vor sich hatten, die sie ihrer Herkunft nach und ihren sonstigen Eigenschaften zufolge als das Bacterium coli commune angesehen hatten. Darum wird es sich empfehlen, in Zukunft mit diesem Namen nur ein mit träger Eigenbewegung begabtes Kleinwesen zu benennen, das aus Kot (am besten von Säuglingen) gezüchtet, die von Escherich angegebnen Merkmale zeigt, das Zucker vergärt, Milch zum Gerinnen bringt und mit Kaliumnitrit (1 ccm 0,02 %oiger Lösung) und einigen Tropfen Schwefelsäure die Indolreaktion gibt.

Ein Bacterium coli commune wurde nach den bisher vorliegenden Mitteilungen bei den allerverschiedensten Erkrankungen des Menschen gelegentlich gefunden, nicht bloss bei der Perforationsperitonitis, sondern auch bei Bauchfellentzündung mit unversehrtem Darm, im Bruchwasser eingeklemmter, gangränöser Hernien, bei Nieren- und Blasenentzündung in der Niere und im Harn, in verschiednen Körperflüssigkeiten bei bestehenden Dickdarmgeschwüren, in bronchopneumonischen Herden, namentlich diarrhoisch erkrankter Kinder, ferner im Eiter sowohl von Abscessen in der Analgegend, als auch an den entferntesten

Körperstellen, von Abscessen der Schilddrüse, der Leber, bei eitriger Hirnhautentzündung, bei Entzündungen der Gallengänge und bei Gallensteinen, bei Lymphgefässentzündung der obern Gliedmassen u. s. w. Ein besonders reichliches Vorkommen im Kot hat man öfters bei Krankheiten bemerkt, bei denen eine bakteriologische Untersuchung des Darminhalts an und für sich erforderlich war, wie bei Unterleibstyphus, bei Cholera, Ruhr, Kinderdiarrhoe, und man hat mehrfach hervorgehoben, dass es nahezu oder vollständig in Reinkultur auftrat; man war dann auch geneigt, ihm eine virulenzerhöhende Wirkung gegenüber den eigentlichen Krankheitserregern, z. B. den Choleravibrionen, oder eine komplizierende Rolle zuzuschreiben, ja selbst es direkt als die Ursache der betreffenden, eben vorliegenden Krankheit anzusehen. Bei andern Infektionskrankheiten, bei denen eine Untersuchung des Kotes nicht nötig erschien, hat man sie meist nicht gemacht. Es ist deshalb die Mitteilung Bards von Interesse, dass in den Stühlen eines Schwindsüchtigen, der seit mehreren Wochen eine Körperwärme von 39° gezeigt hatte, nur das Bacterium coli commune in den Stühlen vorkam (Cr. 10. 105). Man ist also beim Kolonbacillus im allgemeinen in den anderwärts so oft gerügten Fehler verfallen, sein Auftreten bei bestimmten Darmaffektionen zu berücksichtigen und ihm einen gewissen, sogar ursächlichen Wert beizumessen, ohne sein Vorkommen unter normalen Verhältnissen und namentlich bei andern Krankheiten richtig zu würdigen und zu verfolgen.

Dabei bleibt noch die Möglichkeit bestehen, dass man in den einzelnen Fällen verschiedne Bakterienarten vor sich hatte, die sich durch die angewendeten einfachen Nährmittel und Züchtungsverfahren nicht auseinander halten liessen. Thatsächlich sind auch bei derartigen Befunden keine genauern Angaben gemacht, worauf sich die Diagnose Kolibakterien gründete. Vergleicht man dagegen die Mitteilungen über den Nachweis von Typhusbazillen unter schwierigeren Umständen, so begegnet man allerseits dem Bestreben der Prüfung auf seine später zu erwähnenden Eigentümlichkeiten. Vielleicht würden manche Untersucher, wenn der Typhusbacillus nicht vor dem Bacterium coli commune entdeckt und in seinen Merkmalen genau studiert worden wäre, als Ursache des Unterleibstyphus die Kolibazillen angegeben haben. In Zukunft wird man bei jedem Befunde, der zunächst als einer von Kolibakterien angesehen werden kann, ähnlich ins einzelne verfeinerte Untersuchungsmethoden unter Vergleich mit einer wirklichen, zweifellosen Kultur jener Bakterien anzuwenden haben, wie sie bei der Untersuchung auf Typhusbazillen in Gebrauch sind.

Der Nachweis des Typhusbacillus

im Darminhalte stösst eben wegen des Vorhandenseins der genannten Bakterien auf ganz erhebliche Schwierigkeiten. Man muss deshalb anderweitig auf ihn fahnden und den Harn oder Milzsaft des Kranken zur Untersuchung nehmen, worüber Näheres am Schlusse dieses Abschnittes, den wir zweckentsprechend mit der Darlegung der Gestalt- und Lebenseigenschaften dieses Kleinwesens und seiner Unterscheidungsmerkmale gegenüber andern beginnen.

Der Typhusbazillus wurde zuerst und fast gleichzeitig von Eberth und von Koch gesehen und von diesem bereits im Jahre 1880 photographisch abgebildet. Seine ursächliche Beziehung zur Krankheit stellte dann Gaffky mit Hilfe der exakten Untersuchungsmethoden fest (K. M. 2. 372).

Durch sein mikroskopisches Aussehen allein ist der Typhusbazillus schlechterdings nicht als solcher zu erkennen. Denn in seiner Form unterscheidet er sich nicht auffällig von vielen andern Stäbchen. Er ist etwa 2—3mal so lang als breit und erscheint besonders in den Kulturen ausserhalb des Körpers länger infolge Zusammenlagerung mehrerer Zellen zu Scheinfäden. Gegen die Aufnahme der blauen wässrigen Anilinfarbe erweist er sich ein wenig ablehnender, als andre Bakterien, bei Verwendung von basischer Methylenblaulösung und vollends von Karbolfuchsin lässt sich ein solcher Unterschied schwer erkennen. Wie er überhaupt Farbstoffe leicht wieder abgibt, so wird er auch bei der Gramschen Behandlung entfärbt. Nach der Färbung mit unverdünntem Karbolfuchsin machen sich eigentümliche Schrumpfungserscheinungen an den Bazillen geltend, die hier seltner als helle Punkte im Innern auffallen, häufiger aber als kreissegmentartige bis halbkreisförmige nebeneinander liegende Ausschnitte erscheinen und dem Bazillus ein kamm- oder sägeartiges Aussehen verleihen; sie kommen bald nur an einer, bald an beiden Langseiten vor.

Im lebenden Zustande besitzt der Bazillus eine recht lebhafte Eigenbewegung; er verdankt sie zahlreichen, 4—6—14 und mehr Geisselfäden, die von den Polen und von den Seiten ausgehen und abgebrochen zahlreich im Gesichtsfeld angetroffen werden. Ueber ihre färberische Darstellung s. S. 179 (Photogr. Taf. VIII Nr. 45).

Auf der Gelatineplatte wächst der Typhusbazillus, ohne irgend eine Erweichung oder gar Verflüssigung zu bedingen, binnen wenigen Tagen in Kolonien verschiedner Gestalt, je nachdem sie hoch oder tief liegen. Haben schon die oberflächlichen wenig charakteristisches an sich, so gilt das noch mehr für die tiefer gelegnen, so dass man beim Aufsuchen von Typhuskolonien, wenn andre Bakterienarten vorhanden sind, gewöhnlich nur auf die oberflächlichen achtet, da man sich vor der Sisyphusarbeit einer vergleichenden Untersuchung mehrerer etwa abgestochner Tiefenansiedlungen scheut, so notwendig sie auch erscheinen mag.

Die tiefliegenden Ansiedlungen stellen runde, ovale oder wetzsteinförmige, scharf, aber nicht regelmässig begrenzte, gelblichbraune Einlagerungen dar, von entweder gleichmässiger Färbung im Innern oder mit einer dunklern Mittelzone und mit erkennbarer Zeichnung in Gestalt eines dicht durcheinander gehenden Knäuels feinster Fädchen; diese scheinen manchmal am Rande hervorzutreten und dann auch wohl wie zu kleinen Zöpfchen zusammengedreht zu sein (Phot. Taf. VII Nr. 38 u. 39).

Diese Erscheinung erinnere ich mich nicht, an ältern, im Laboratorium durch viele Generationen fortgezüchteten Typhusbakterien wahrgenommen zu haben, dagegen bin ich ihr häufig bei frisch aus der menschlichen Leiche gewonnenen Kolonien begegnet. Ueberhaupt bekam ich den Eindruck, dass die sog. Laboratoriumkulturen in mancher Beziehung von den unmittelbar dem Körper entstammenden

verschieden sind, namentlich rascher und üppiger wachsen. Alle Untersuchungen über Form- und Wachstumseigentümlichkeiten der Typhusbazillen, insbesondere die zum Vergleiche mit ähnlich wachsenden, wie Kolibazillen, angestellten, sollen deshalb nur mit frischem Materiale angestellt werden.

Die oberflächlich liegenden und wachsenden Typhuskolonien stellen im Jugendzustande bläulichweisse, durchscheinende Auflagerungen dar, die mit der Zeit grösser und dicker werden, aber immerhin zart bleiben. Am bezeichnendsten ist die junge Ansiedlung mit ihren völlig farblosen Auflagerungen, die oft eine schlierige Anordnung aufweist. Im Innern, selten ganz in der Mitte, sieht man den Ausgangspunkt als eine kleine, rundliche, dunklere Stelle, in deren Umgebung die Färbung ins gelblichbräunliche spielt. Wenn auch etwas dicker als der Rand, ist doch diese innere Zone nicht so dick, hügelartig erhaben, wie bei andern ähnlich wachsenden Bakterien, z. B. bei der in Photogr. Taf. VII, Nr. 43 abgebildeten Kolonie eines Bakteriums aus diarrhoischem Stuhle. Nach dem Rande zu machen sich immer mehr helle, radiär verlaufende Linien bemerklich, die wie feine Einrisse oder Spalten drei- und mehreckige Bezirke in der Grundsubstanz abgrenzen, bei genauerm Zusehen aber als erhaben erkannt werden, etwa wie Rippen von Blättern (Photogr. Taf. VII Nr. 40 u. 41).

Vom Impfstich in der gerade erstarrten Gelatine aus entwickelt sich ein bläulichweisser, meist dünnbleibender Ueberzug mit buchtiger Begrenzung, der nach einigen Wochen der Glaswand nahe kommt oder sie berührt und oft leicht irisiert.

Strichförmige Aussaaten auf Agar (in Schälchen) sind nur bei ganz jungen, 1 Tag im Brutschrank gehaltnen Kulturen bezeichnend. In der Umgebung des dichtern Impfstriches breitet sich ein Ueberzug mit tief buchtigen, lappigen, zungenförmigen Rändern aus, der oft derartig dünn und zart ist, dass er nur bei durchfallendem Lichte als feine bläuliche Decke erscheint. Gewöhnlich ist er aber schon im auffallenden Lichte sichtbar; unterm Mikroskop kann man keine Zeichnung in der farblosen oder ganz leicht gelblichen, durchscheinenden, glattrandigen Kultur erkennen.

Eine Abimpfung in Bouillon ergibt nichts besonders bezeichnendes. Die Flüssigkeit trübt sich immer: auf dem Boden lagert sich ein gelblichweisser Satz ab.

Setzt man zu etwa 10 ccm der Bouillonkultur 1 ccm einer 0,02%igen Kaliumnitritlösung und einige Tropfen Schwefelsäure, so tritt keine Indolreaktion ein, im Gegensatz zu Kolibazillen u. a. (Kitasato Z. 7. 519).

In Gärungsröhrchen (S. 203) gefüllt, geimpft und in den Brutschrank gestellt, macht sich in der Bouillon keine Gasentwicklung geltend, selbst nicht bei Gegenwart von 2%igem Trauben- oder Milchzucker*). Die anfänglich ziemlich starke Säuerung geht wieder zurück und schlägt in die alkalische Reaktion um (Smith C. 11. 367). Viele typhusähnliche Bakterien dagegen bilden Gase in Zuckerbouillon

*) Ueber die gasförmigen Stoffwechselprodukte beim Wachstum der Typhusbazillen s. Hesse Z. 15. 26.

und selbst in einfachem Fleischwasser ohne Peptonzusatz. Darum schlug Dunbar (Z. 12. 485) vor, das Fleischwasser ohne jeden Zusatz zur Unterscheidung von „Bacterium coli commune“ zu benützen. Aber es kommen meinen Beobachtungen zufolge im Darminhalt typhusähnliche Bakterien vor, die darin ebenfalls kein Gas bilden. Es ist deshalb zwar die Gärungsprobe für die Untersuchung auf Typhusbazillen zu gebrauchen, aber man ist nach ihrem Ausfall nur zu dem Urteil berechtigt: wenn Gasbildung vorhanden, kann es sich nicht um Typhusbazillen handeln. In diesem Sinne ist die Gärungsprobe auch bei allen derartigen Entscheidungen heranzuziehen, zumal sich bei etwa zahlreicher vorhandnen, zweifelhaften Bakterienarten nach 24 Stunden ein gewisser Teil wird ausschalten lassen.

In demselben Sinne lässt sich auch die Kultur in sterilisierter Milch verwenden, weil der Typhusbazillus sie mangels irgendwelchen Gärungsvermögens nicht zum Gerinnen bringt. Da das aber auch bei typhusähnlichen Bakterien vorkommt und der Entscheid erst in einigen Tagen zu erwarten ist, so kann man von ihrer Verwendung als wichtiges Kulturmedium Abstand nehmen und sie vielleicht zur Vervollständigung des Bildes nebenher gehen lassen.

Ein noch langsamerer Entscheid ist von zuckerhaltiger Gelatine zu erwarten, die Luksch (C. 12. 427) anwendete, um das Ausbleiben der Bildung von Gasblasen festzustellen. Wurtz (Cr. 12. 633) hat dem festen Nährboden ausser Zucker noch Lakmustinktur zugesetzt, wodurch der Mangel von Säurebildungsvermögen dargethan werden sollte. In neutralen zuckerhaltigen Medien lässt sich aber eine Säurebildung beobachten, denn Petruschky erhielt in der Lakmusmolke (S. 210) einen Säuregrad, der 2—3% $^{1}/_{10}$-Normal-Natronlauge entsprach.

Als ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal hat Gaffky die Kultur auf der Kartoffel angegeben und sie ist es auch bis jetzt geblieben, unentbehrlich für jede derartige Untersuchung.

Es besteht in einem vollkommen farblosen Wachstum, das trotz reichlicher Entwicklung nur als feuchtglänzende Auflagerung sich bemerklich macht.

Dieses Merkmal kommt bei andern, den Typhusbazillen ähnlichen Bakterien kaum vor; es wurde zwar von Karliński (C. 6. 73) mitgeteilt, er habe in einem Gemisch von Senkgrubenfäces und typhösem Stuhl sehr oft eine Kurzstäbchenart gefunden, deren Differenzierung vom Typhusbazillus ungemein schwer gewesen sei, denn sie sei auf Gelatineplatten vollkommen wie dieser gewachsen und habe auf Kartoffelscheiben einen zarten, fast unsichtbaren Belag, und zwar auf schwach angesäuerten Kartoffelscheiben einen üppigen, von bläulichweisser Farbe gebildet. Vielleicht hätte eine weitere Untersuchung ausser mit Kartoffeln noch leichter die Unterscheidung ermöglicht. Dann hat Buchner einen typhusähnlichen Bazillus auf manchen Kartoffelsorten vollständig typhusartiges Wachstum entfalten, auf andern Sorten einen dicken blassgelblichen Belag bilden sehen, wie er bei echten Typhusbazillen nur vorkommt, wenn man die Kartoffeln künstlich neutralisiert (C. 4. 356).

Die verschiedne Beschaffenheit, namentlich der Säuregrad der einzelnen Kartoffeln je nach der Sorte oder nach der Jahreszeit, d. h. nach dem Keimungszustand (Buchner) bedingt, wie bei verschiednen andern Bakterien, so auch beim Typhusbazillus ein verändertes Wachs-

tum, so dass das typische Aussehen der Kultur einer mehr oder weniger gefärbten, grauweissen bis gelblichen oder gelblichbräunlichen Färbung (Schiller, K. A. 5. 312) weicht. Gebraucht man in Anbetracht dieses Umstandes bei seinen Untersuchungen die Vorsicht, frische Kartoffeln und verschiedne Sorten von ihnen zu verwenden und befolgt die Regel, eine authentische Typhuskultur zum Vergleich auf dieselben Nährboden zu bringen, so wird man auch um diese Klippe herumkommen, die sich der Diagnose für den Augenblick hindernd entgegenstellt, sie aber nicht unmöglich macht.

Wir dürfen im Zusammenhalt mit den andern Lebenseigentümlichkeiten des Typhusbazillus die Art seines Wachstums auf Kartoffeln als eins der sichersten Kriterien ansehn.

Sind die zur Kultur verwendeten Kartoffeln geeignet, so kann man regelmässig noch bestimmte mikroskopische Merkmale an ihnen feststellen, nämlich das Fehlen oder Erscheinen von eigentümlich glänzenden Körnchen im Innern der längern, fadenförmigen oder kürzeren, mehr einzeln angeordneten Bazillen, je nachdem sie bei Zimmer- oder bei Körperwärme gezüchtet wurden.

Wir nehmen zu diesem Versuch vier Reagensröhrchen mit sterilisierten, schrägdurchschnittnen Kartoffelcylindern und impfen je zwei mit der fraglichen, sowie mit einer echten (Vergleichs-)Typhuskultur. Je eins von ihnen bleibt im Zimmer dunkel stehen, je ein andres wird in den Brutschrank gestellt. Nach Ablauf von drei Tagen entnehmen wir jedem Röhrchen eine Spur zur Verteilung in einem Tröpfchen Bouillon auf einem Deckgläschen, das über den hohlgeschliffnen Objektträger gelegt (S. 29) und sogleich mit der Oelimmersion untersucht wird.

Die Typhusbazillen von Kartoffeln, die drei Tage im Brutschrank gehalten wurden, erscheinen im hängenden Tropfen vorwiegend als sehr kurze Glieder; viele haben an einem Pol und, wenn zwei Stäbchen zusammenhängen, meist an den entgegengesetzten Enden ein stark lichtbrechendes Körnchen, das bei andrer Einstellung des mikroskopischen Tubus dunkler aussieht. Dass diese Polkörner mit Sporen nichts zu thun haben, hat Buchner bewiesen (S. 177).

Bei den im Zimmer auf Kartoffeln gezüchteten Typhusbazillen sieht man diese Polkörner nur selten. Die Stäbchen sind häufig länger, sehen gequollner aus und neigen viel mehr zur Bildung von Scheinfäden, wie die bei 37 ° gezüchteten.

Der Typhusbazillus ist für Tiere pathogen. Aber die Erscheinungen der Infektion sind weniger ausgesprochen, das Bild ist mehr das einer Vergiftung. Es hat mit dem der menschlichen Erkrankung wenig gemeinsam. Zu Tierversuchen taugen bloss ganz frisch aus dem Körper gewonnene Kulturen, ausserhalb fortgezüchtete verlieren ihre Virulenz binnen kurzem. Durch gleichzeitige Einspritzung von Kulturen pathogener oder nicht pathogener Bakterien oder von Bakteriengemischen (Faulflüssigkeiten, Kot), einerlei ob im lebenden oder (durch Hitze) abgetöteten Zustand, lässt sich die Wirksamkeit der Typhusbazillen wieder herstellen.

Chantemesse und Widal gelang es durch gleichzeitige intraperitoneale Einverleibung von 8—10 ccm sterilisierter Streptokokkenkulturen mit 4 ccm der

Tafel I.

Nr. 1. **Staphylococcus pyogenes aureus** 650 ×. Abstrich von einer Agarkultur; in zweiter Generation von Furunkeleiter stammend; 2 Tage bei 37° gezüchtet. Neben vielen haufenförmig zusammengelagerten Kokken sieht man in der rechten Hälfte des Gesichtsfelds die ausgesprochne Traubenform (S. 316).

Nr. 2. **Staphylococcus pyogenes aureus** 40 ×. Einige kleine, einzeln stehende Ansiedlungen aus einer 2 Tage alten Agarplatte, die mit dem Eiter eines Panaritiums angelegt und 2 Tage im Brutschranke gezüchtet worden war.

Nr. 3. **Streptococcus longus pyogenes** 650 ×. Auf dem Objektträger ausgebreiteter, in isolierten, kuppenförmigen Häufchen gewachsner Bodensatz aus 2 Tage alter Bouillonkultur, besät mit dem Milzstückchen einer Maus, die der Impfung mit den von einem Empyem der Brusthöhle herstammenden Streptokokken erlegen war (S. 308).

Nr. 4. **Streptococcus longus pyogenes** 920 ×. Die starke Vergrösserung soll noch einen bessern Einblick in die Anordnung einer Streptokokkenkette bieten, namentlich im Gegensatze zum lanzettförmigen Diplococcus, der auf künstlichen Nährboden ebenfalls lange Ketten bildet (s. Taf. III Nr. 14), die aber viel starrer sind (S. 324).

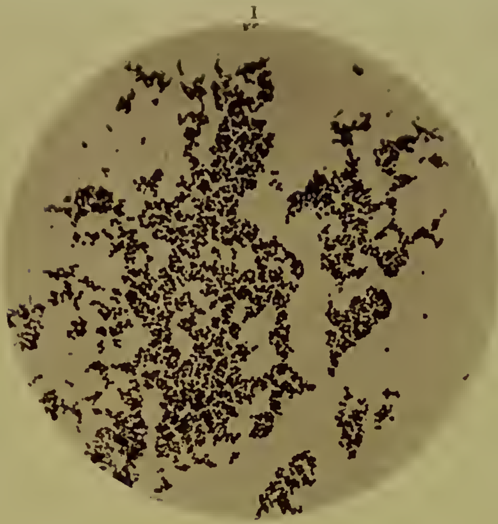
Nr. 5. **Streptococcus longus pyogenes** 100 ×. Das kleine Bildchen einer Kolonie von einer 1 Tag alten, bei 37° gezüchteten Kultur auf Glyzerinagar zeigt die ausserordentlich zarte und zierliche Ansiedlung mit ihrem Maschenwerk, das namentlich am Rande deutlich wird. Die ganz feine, mit der Lupe erkennbare Punktierung der Fädchen deutet ihre Zusammensetzung aus einzelnen Kokkenpaaren bereits an (S. 308).

Nr. 6. **Micrococcus tetragonus** 100 ×. Die 1 Tag alte Agarkultur wuchs aus dem Milzausstrich einer mit diesen Bakterien geimpften Maus. Die am Rande isoliert liegenden Plättchen haben eine ähnliche Vierteilung, wie die einzelnen Tetradenkokken, von deren Massen sie gebildet werden (S. 317).

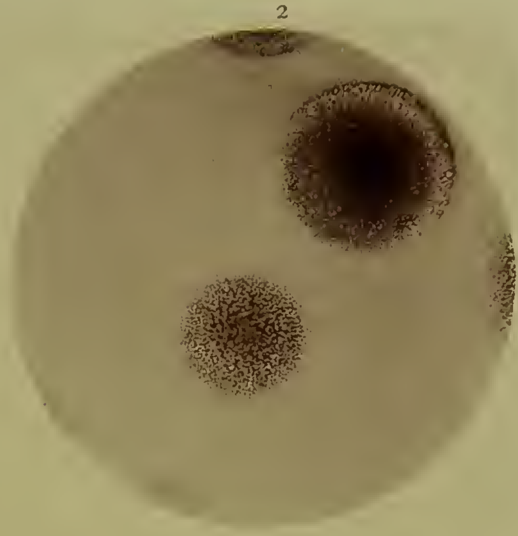
Nr. 7. **Micrococcus tetragonus** 615 ×. Abstrich vom Bauchfell einer der Impfung erlegnen weissen Maus. Die zahlreich zwischen Leukozyten gelegnen, an Grösse nicht immer gleichen Tetradenkokken tragen sämtlich Kapseln und heben sich deshalb mit einem hellen Hofe vom Untergrund ab.

Tafel I.

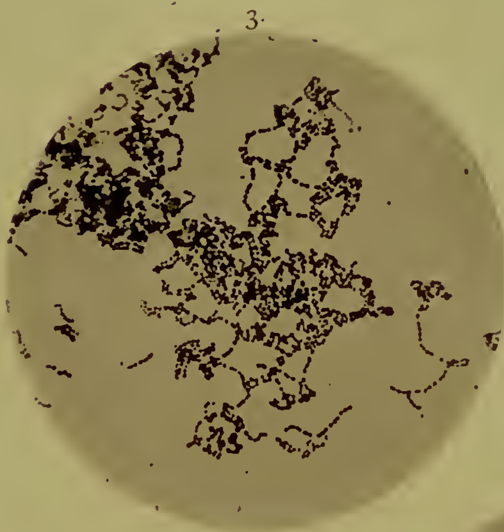
1



2



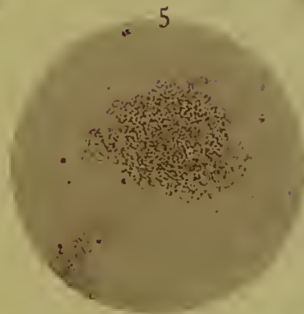
3.



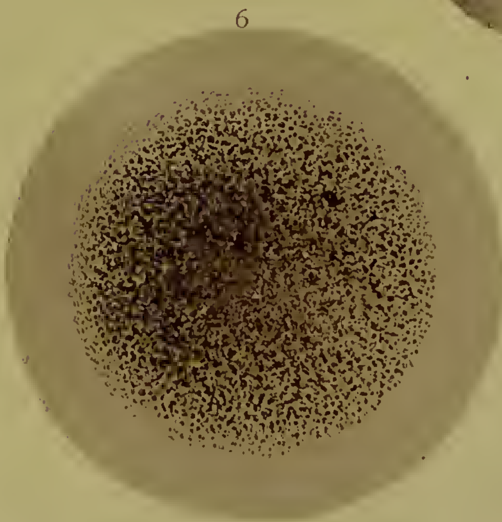
4



5



6



7



Phot. von Dr. L. Heim.

Crayondruck von J. B. Obernetter.

Tafel II.

Nr. 8. **Bacillus anthracis** 38,5 ×. Die ausserordentlich üppig gediehnen Milzbrandkolonien hatten sich bei Brutschrankwärme auf der Agarplatte binnen 22 Stunden aus Impfstrichen entwickelt, die mit dem Herzblut eines an Milzbrandinfektion verstorbnen Mannes angelegt worden waren.

Nr. 9. **Bacillus anthracis** 640 ×. Ausstrich des Bluts einer milzbrandigen Maus.

Nr. 10. **Bacillus anthracis** 640 ×. Abstrich von einer mit dem Milzausstrich einer Maus angelegten Kultur, die binnen 22 Stunden auf der Oberfläche von Agar ohne Pepton bei 32° gewachsen war (s. S. 192). Man sieht teils Fäden, worin verschiedne helle Pünktchen den Anfang der Sporenbildung erkennen lassen, teils fast oder völlig fertig gebildete Sporen, deren Zusammenhang durch Reste der vegetativen Zellen kaum mehr erkennbar ist.

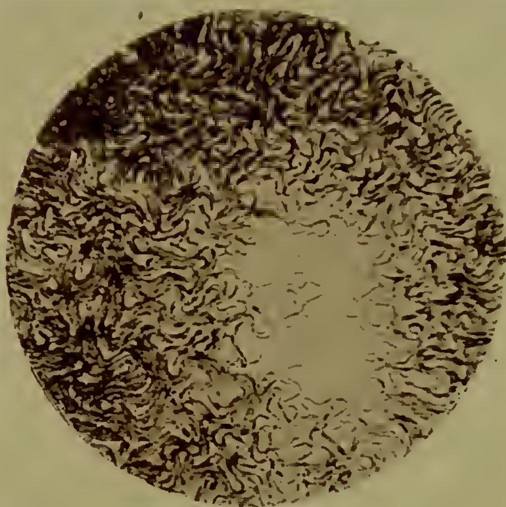
Nr. 11. **Bacillus anthracis** 650 ×. Ausstrich einer sporenhaltigen Milzbrandbazillenkultur, vor der Färbung mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt. Dadurch sind die Sporen färbbar geworden, der vegetative Teil der Zellen aber ist derart alteriert worden, dass er die Farbe nur wenig mehr annahm. Die Sporen sind aus den Zellen förmlich herausgedrückt und man sieht sie in allen Stadien des Austritts, einige ganz, andre nur teilweise herausgeschlüpft, wieder andre noch an ihrem alten Platze. Das Präparat verdanke ich Herrn Oberstabsarzt Prof. Dr. Buchner in München. Buchner hat bekanntlich zuerst eine und zwar diese Sporenfärbungsmethode angegeben.

Nr. 12. **Bacillus oedematis maligni** 650 ×. Abstrich vom Bauchfell eines der Impfung mit einer Reinkultur dieser strengen Anaërobier erlegnen Meerschweinchens.

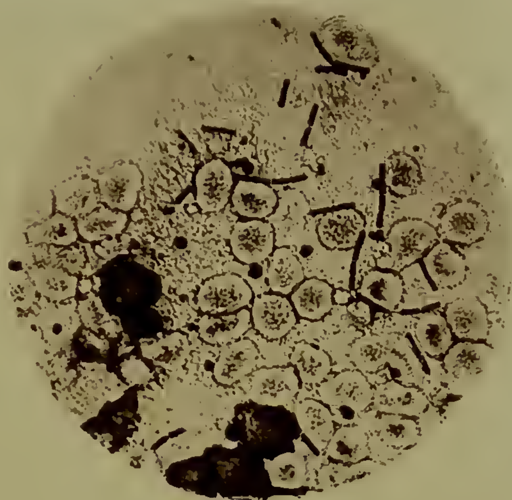
Nr. 13. **Bacillus tetani** 650 ×. Präparat vom Bodensatz einer Bouillonkultur, die nach dem S. 143 beschriebnen Verfahren angelegt und 3 Tage bei 37° unter Wasserstoff gezüchtet worden war. Unter den kochlöffelförmigen Bazillen mit ihren endständigen Sporen sieht man mitunter noch einige Fädchen ohne Sporen.

Tafel II.

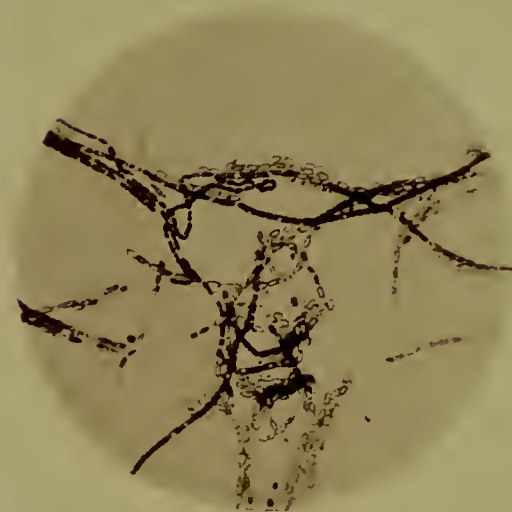
8



9



10



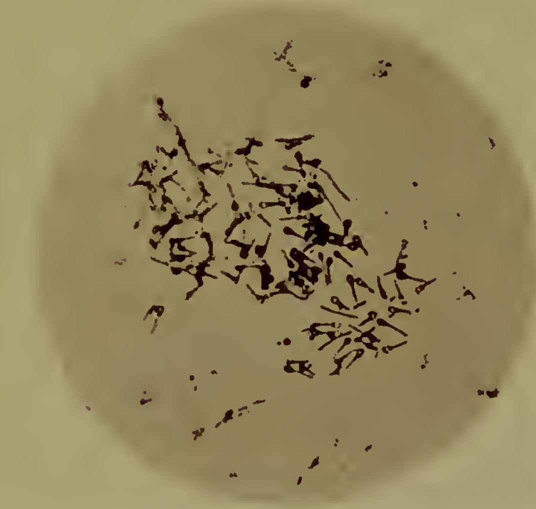
11



12



13



Phot. von Dr. L. Heim.

Crayondruck von J. B. Obernetter.

Tafel III.

Nr. 14. **Diplococcus lanceolatus** (A. Fraenkel-Weichselbaumscher Pneumonie-Kapselkokkus) 920 ×. Klatschpräparat von Glyzerinagarplatte, besät mit der Milz einer Maus, die der Impfung mit der pericardialen Schwarte eines an Pleuropneumonie Verstorbnen erlegen war. Die Kultur hatte sich binnen 22 Stunden im Brutschrank bei 37° entwickelt. Die grossen schwarzen Gebilde sind Reste des Milzgewebes oder von Leukozyten, die noch vom Ausstriche her stammten, und in deren Umgebung die Bakterien zu Ketten ausgewachsen waren. Wichtig ist die Starrheit der langen Ketten im Gegensatze zu den geschlängelten der Streptokokken (S. 324 und Taf. I Nr. 4).

Nr. 15. **Diplococcus lanceolatus** 40 ×. Eine 5 Tage alte Kolonie von einer Agarplatte, die mit dem Herzblut einer andern Maus derselben Versuchsreihe geimpft war, der die vorige angehörte.

Nr. 16. **Diplococcus lanceolatus** 650 ×. Ausstrich einer dritten Maus jener Reihe. Man sieht die lanzettförmigen oder kerzenflammenähnlichen Kokken, meistens paarweise und dann mit ihrer Basis einander zugekehrt in einer zarten Kapsel liegen.

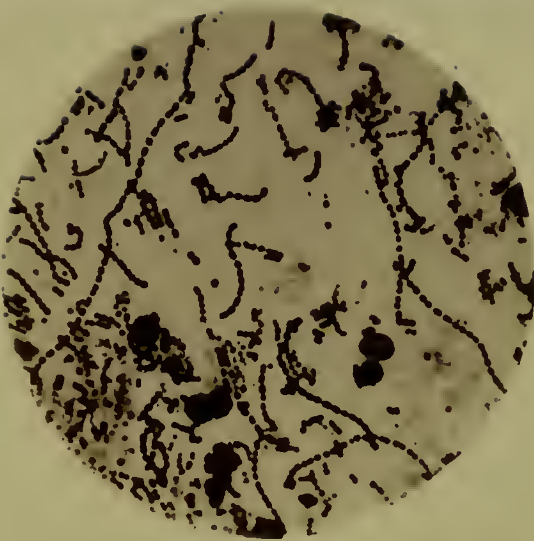
Nr. 17. **Bacillus tuberculosis** 650 ×. Frisches Sputum eines Tuberkulösen ohne weitre Vorbehandlung gefärbt nach dem S. 362 angegebnen Verfahren.

Nr. 18. **Bacillus tuberculosis** 925 ×. Dasselbe Sputum mit Kalilauge zur Homogenisierung und Sedimentierung nach Biedert (S. 353) behandelt. Die Bazillen haben dadurch ganz erheblich gelitten. Sie sehen dünner aus und zeigen knotenförmige Auftreibungen in ihrem Verlaufe. Durch vorsichtige Anwendung der Kalilauge und durch nicht zu starkes Kochen lassen sich die Missbildungen grossenteils vermeiden; die Vorbehandlung wurde hier absichtlich ein wenig übertrieben, um zu zeigen, wie die Gestalt der Bazillen dadurch beeinträchtigt werden kann.

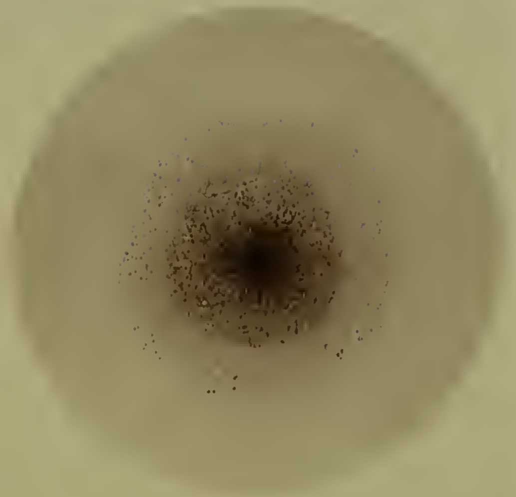
Nr. 19. **Bacillus tuberculosis** 925 ×. Dieses Präparat stammt von demselben Sputum und wurde ohne Vorbehandlung gefärbt, wie Nr. 17. Es soll zum Vergleiche mit dem vorigen Bilde dienen und das Aussehen der Bazillen bei starker Vergrösserung vor Augen führen.

Tafel III.

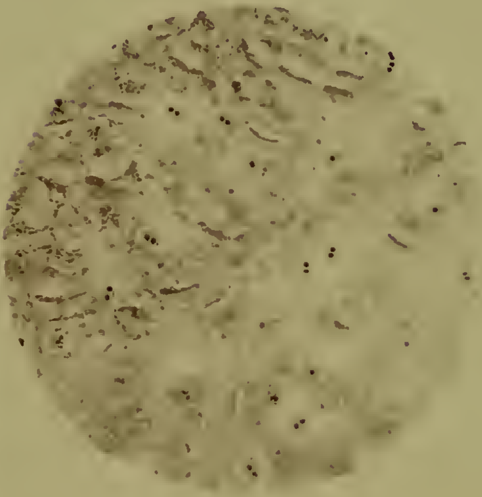
14



15



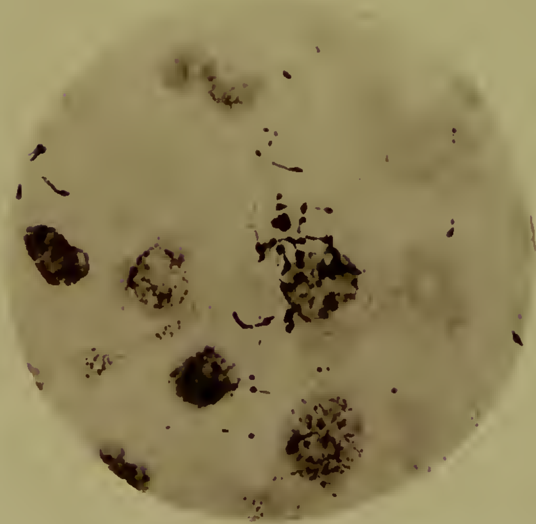
16



17



18



19



Phot. von Dr. L. Heim. Crayondruck von J. B. Obernetter.

Tafel IV.

Nr. 20. **Soorpilz** 40 ×. Eine Gelatinestichkultur wurde gehärtet (s. S. 188) und mit dem Mikrotom in Querschnitte zerlegt. Am Rande des Impfstichs sieht man die Kultur in 8erförmiger Gestalt entwickelt, von der mehrere Ausläufer weiter in die Gelatine hinein gewachsen sind.

Nr. 21. **Soorpilz** 250 ×. Ein paar solcher vom obern Ende der Pilzfigur abgehende Ausläufer, die man leicht im vorigen Bilde wieder finden wird, sind hier zur Erläuterung des S. 281 Gesagten vergrössert wiedergegeben.

Nr. 22. **Bacillus mucosus** 650 ×. Ausstrich aus dem Nasensekret eines Ozänakranken. Man sieht plumpe ovale Bakterien mit Kapseln, manchmal liegen ihrer zwei bisquitförmig in einer Kapsel (S. 335).

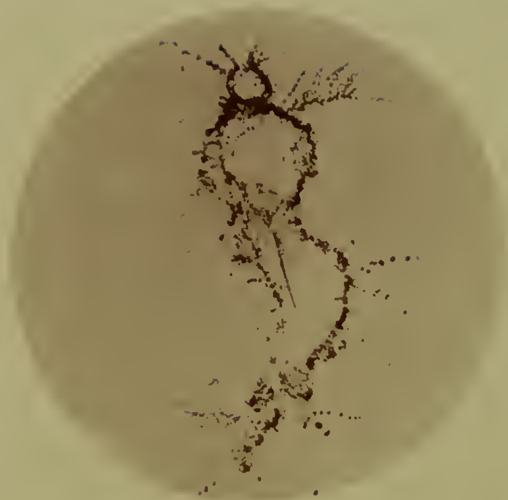
Nr. 23. **Actinomyces** 200 ×. Schnittpräparat aus einem Strahlenpilzherd vom Rinde. Der Strahlenpilz liegt am Rande des Schnittes. Links an der Begrenzung des Gesichtsfelds beginnt das strahlenförmige Gebilde und zieht nach rechts und etwas nach oben; am Rande des Gewebes hat der Pilz noch ein Büschel (ungefärbter) kolbiger Strahlen ausgeschickt (S. 330).

Nr. 24. **Elastische Fasern** 100 ×. Ein Stückchen einer menschlichen Lunge wurde mit verdünnter Kalilauge gekocht, und aus der Flüssigkeit ein Teilchen zum vorliegenden Präparate entnommen (S. 364).

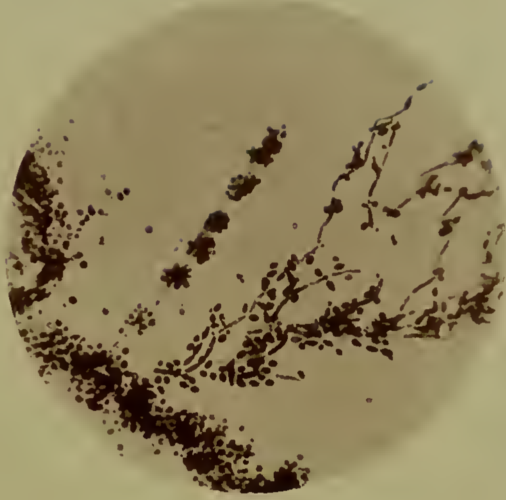
Nr. 25. **Bacillus Influenzae** 650 ×. Zunächst fallen im Bilde lange und verschieden breite, das Gesichtsfeld durchquerende Streifen auf. Sie rühren von ausgestrichnen Zellkernen (S. 31) her. Zu beiden Seiten von ihnen, namentlich vom mittlern, liegen, von dem schwächer gefärbten punktierten Untergrunde sich durch ihre dunklere Färbung abhebend, die Häufchen der sehr kleinen, ovalen Influenzabakterien; sie sind nur wenig länger als breit und an den Enden abgerundet, manchmal dünner zulaufend (S. 374). Die Lupenbetrachtung ist hier besonders empfehlenswert. Das ungefärbte Präparat verdanke ich Herrn Oberstabsarzt 1. Kl. Dr. Bestelmeyer. Es stammt aus einer Grippeepidemie in Ansbach.

Tafel IV.

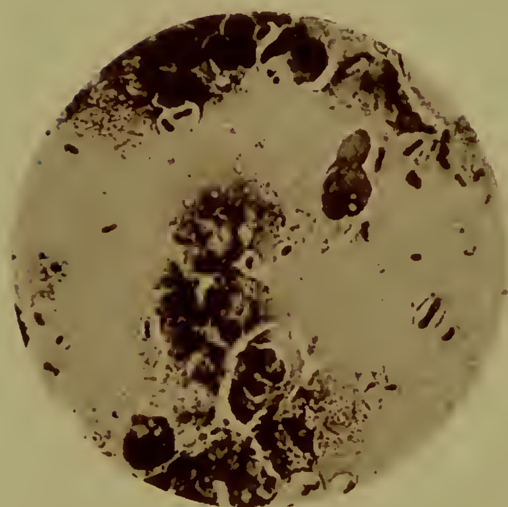
20



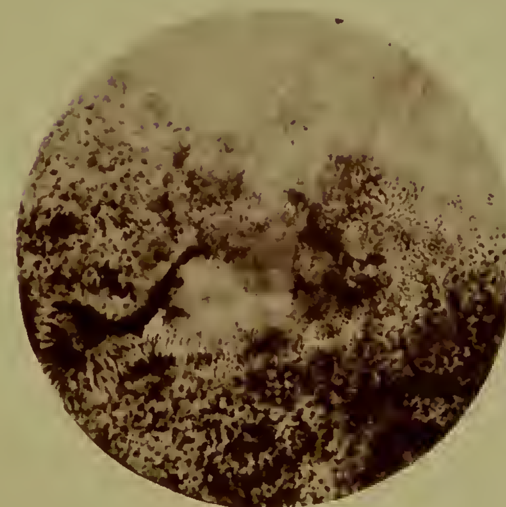
21



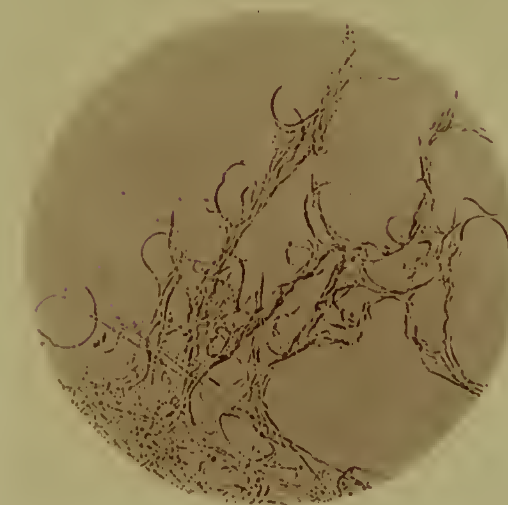
22



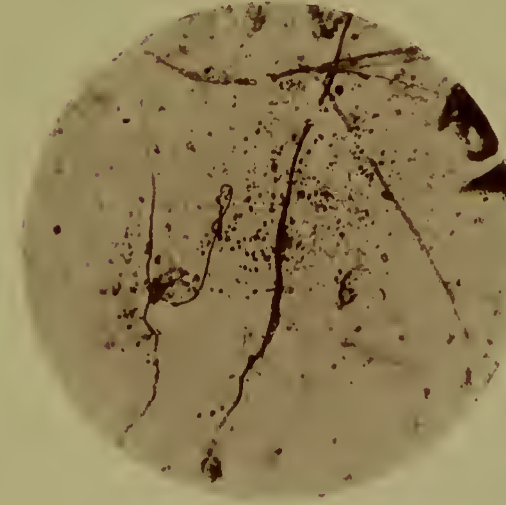
23



24



25



Phot. von Dr. L. Heim. Crayondruck von J. B. Obernetter.

Tafel V.

Nr. 26. **Bacillus leprae** 650 ×. Dreifach gefärbtes Schnittpräparat aus der Haut. Die zahlreichen schwarzen Stellen sind zum Teil dicht mit den (rot gefärbten) Bazillen besetzte Leprazellen. Da sie aber in verschiednen Ebenen lagen, konnte nur ein kleiner Teil von ihnen deutlich differenziert zur Ansicht gebracht werden (S. 297).

Nr. 27. **Streptobacillus ulceris mollis** 650 ×. Auch dieses Präparat liess sich, wie alle Schnitte, nur schwer für die mikrophotographische Wiedergabe der Bakterien einstellen. Etwas oberhalb der Mitte beginnt eine typische Bazillenkette, die eine Strecke lang im Gewebe untertaucht, weiter oben aber wieder sichtbar wird. Oefters begegnet man in diesem Präparate vereinzelten der sehr feinen und zarten Stäbchen; auch sie gehören meistens einer längern Kette an, am deutlichsten sieht man das noch nahe dem linken Rande des Gesichtsfelds. Immerhin gibt das Präparat ein Bild von der Grösse, dem Aussehen und der Anordnung der Streptobazillen (S. 300). Ich verdanke es, wie auch das vorige, Herrn Dr. Unna in Hamburg.

Nr. 28. **Gonococcus** 650 ×. Ausstrich des Sekrets einer unbehandelten, frischen Gonorrhoe. Unter den 16 Leukozyten sehen wir die drei in der Mitte gelegnen mit Gonokokken besetzt, vereinzelte Bakterien liegen auch in oder an andern Zellen rechts neben.

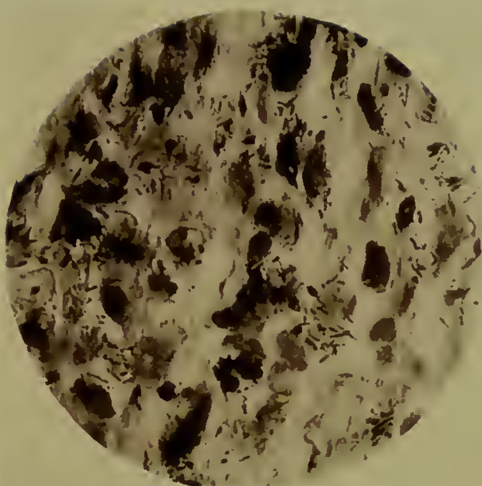
Nr. 29. **Gonococcus** 1000 ×. Dieser Ausstrich stammt von einer etwa 4—5 Wochen alten und behandelten Gonorrhoe. Durch die stärkere Vergrösserung ist auch die bezeichnende Gestalt der semmelförmigen oder kaffeebohnenähnlichen Diplokokken deutlicher. Hauptsächlich soll dieses Präparat zeigen, dass die charakteristischen Gonokokkenhaufen nicht bloss in Leukozyten vorkommen, sondern auch ausserhalb, und dass sie dann auch einmal an Epithelzellen angetroffen werden können.

Nr. 30. Ein **Malariaparasit** 650 ×. Das mittelste der Blutkörperchen ist vom Parasiten befallen und unter seinem Einflusse gequollen und blasser geworden. Ich verdanke das Präparat Herrn Dr. du Mesnil, Oberarzt am städtischen Krankenhause in Altona; seiner gütigen Mitteilung zufolge stammt es von einer in Ost-Afrika entstandnen, durch Chinin geheilten Febris quotidiana; das Blut wurde unmittelbar nach dem Schüttelfrost entnommen.

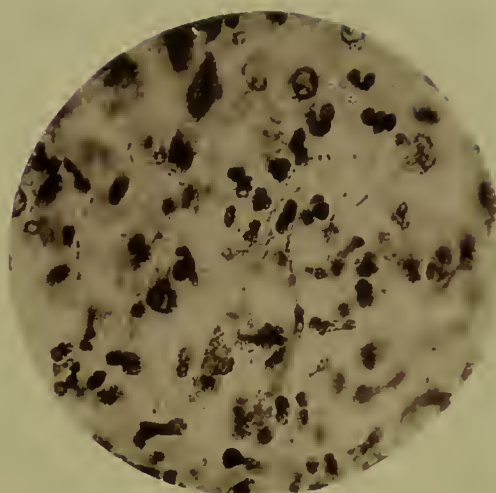
Nr. 31. **Spirochaeta febris recurrentis** 650 ×. Das (violett gefärbte) Präparat verdanke ich dem leider seitdem einer Diphtherieinfektion erlegnen, verehrten Kollegen Herrn Dr. Meyer, weiland Assistent am hiesigen Juliusspitale.

Tafel V.

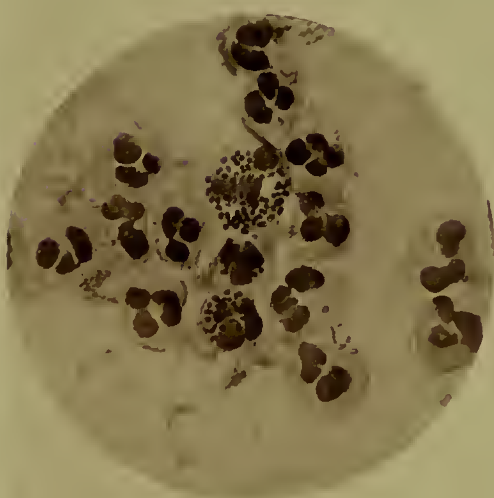
26



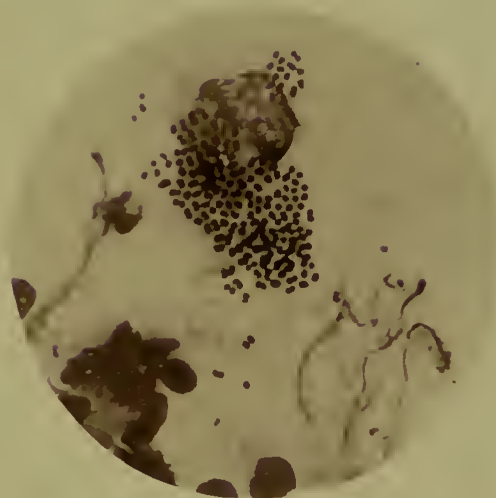
27



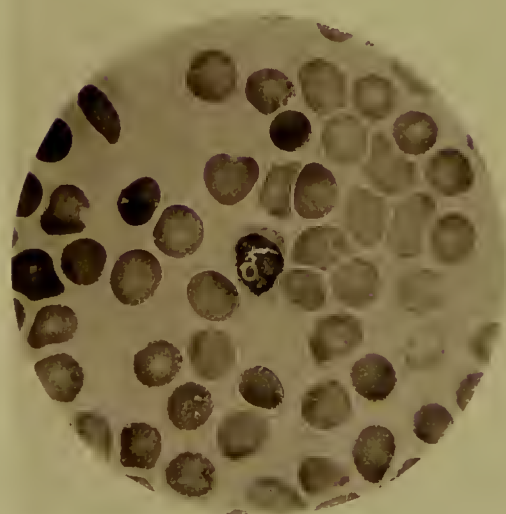
28



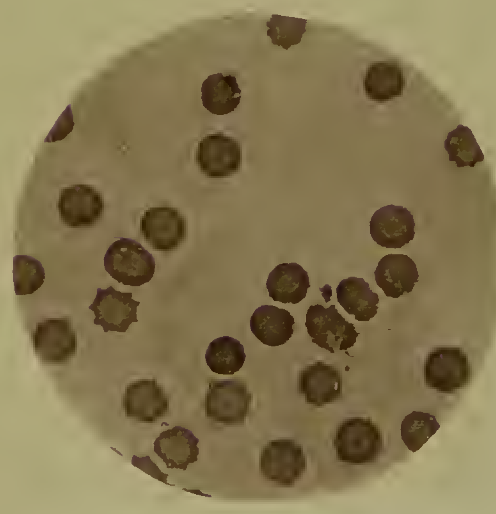
29



30



31



Phot. von Dr. L. Heim.

Crayondruck von J. B. Obernetter.

Tafel VI.

Nr. 32. **Bacillus diphtheriae** 650 ×. Ausstrich eines diphtheritischen Tonsillenbelags.

Nr. 33. **Bacillus diphtheriae** 39 ×. Reinkultur (zweite Generation) aus Croupmembran, binnen 22 Stunden auf der Glyzerinagarplatte im Brutschranke gewachsen.

Nr. 34. **Bacillus diphtheriae** 650 ×. Klatschpräparat vom Ausstrich einer Agarplatte 24 Stunden nach Aussaat einer Croupmembran. Die Ansiedlungen der Diphtheriebazillen waren mit denen vieler andrer Bakterienarten, Streptokokken, grossen Kokken u. s. w. vergesellschaftet. Eine Durchmusterung des Klatschpräparates liess unter diesen die hier abgebildeten Diphtheriebazillen an ihrer eigentümlichen regellosen Anordnung, an ihrem Aussehen und an ihrer Form unschwer erkennen (S. 348).

Nr. 35. **Vibrio cholerae asiaticae** 650 ×. Ausgestrichne Schleimflocke der Dejektion eines Cholerakranken. Man sieht teils nur ganz schwach, teils stark gekrümmte, teils S-Formen (S. 402). Das Präparat verdanke ich Herrn Dr. Petri, Regierungsrat am Kaiserlichen Gesundheitsamte in Berlin.

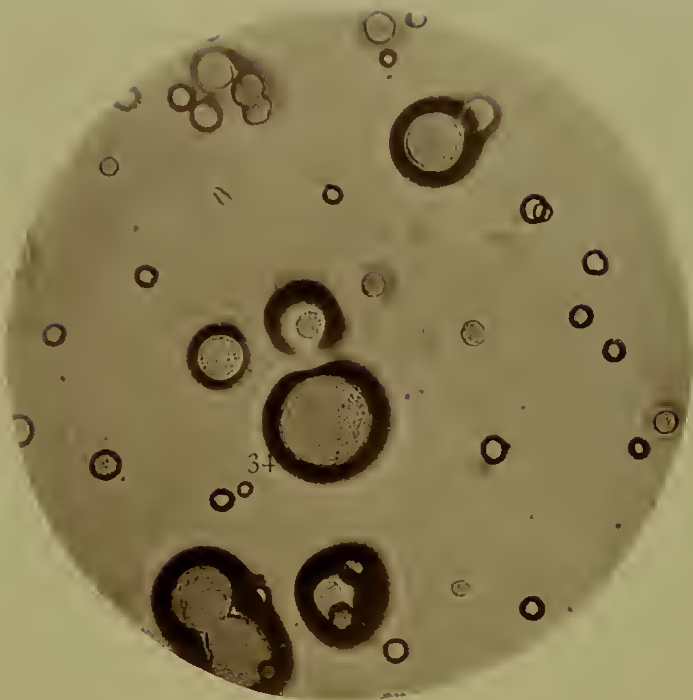
Nr. 36. **Bacillus mallei** 650 ×. Ausstrich aus einem Drüsenabscess eines der Rotzinfektion erlegnen Meerschweinchens. Es kostete mehrstündiges Suchen, bis die Stelle mit wenigstens so vielen Bazillen gefunden wurde; wie so oft, liegen auch diese am Rande des Ausstrichs.

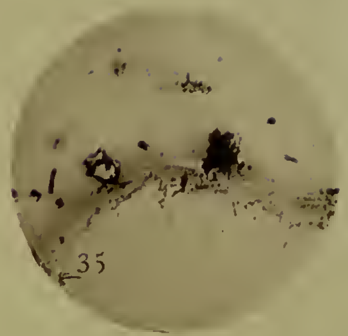
Nr. 37. **Vibrio cholerae asiaticae** 35 ×. Reinkultur auf Gelatineplatte nach 2tägigem Wachstum bei 20—22°. Vor der Aufnahme war die Platte einige Tage lang Formalindämpfen ausgesetzt gewesen. Die photographierte Stelle zeigt Ansiedlungen in verschiednen Entwicklungstadien von den grossen, gezackten, in einem bereits tiefern Verflüssigungsbezirk eingesunknen Kolonien bis hinab zu ganz jungen, eben erst im Aufkeimen befindlichen Ansiedlungen, die an der Oberfläche liegend, als erstes Zeichen ihrer Verflüssigungsfähigkeit einen hellen Saum um sich haben. Je tiefer die Bakterienkolonie eingesunken ist, desto breiter und schwärzer stellt sich unterm Mikroskope der Gelatinewall dar (S. 396).

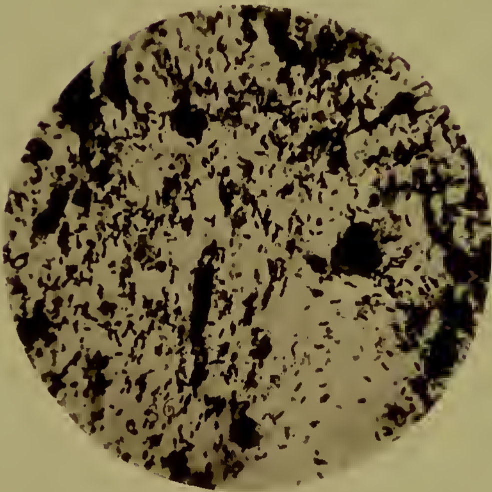
Tafel VI.

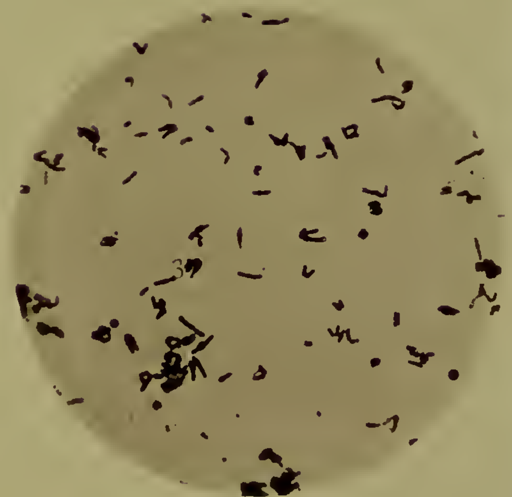
32

33













Phot. von Dr. L. Heim.

Crayondruck von J. B. Obernetter.

Tafel VII.

Nr. 38. **Bacillus typhi abdominalis** 22,5 ×. Ansiedlungen auf einer Gelatineplatte, angelegt mit dem Milzsaft einer Typhusleiche und 2 Tage bei 20° gehalten. Links oben ist eine Kolonie mit Oberflächenausbreitung, den übrigen Ansiedlungen fehlt eine solche ganz oder teilweise. Drei solcher kleinern Kolonien sind einen Tag später und bei etwas stärkrer Vergrösserung nochmals aufgenommen worden und hier abgebildet als

Nr. 39. **Bacillus typhi** 30 ×, um kenntlich zu machen, wie die feinere Zeichnung im Innern ist, und dass sich an der Peripherie mitunter kleine, zopfförmige Anhängsel bemerkbar machen.

Nr. 40. **Bacillus typhi** 20 ×. Diese Oberflächenkolonie stand auf einer 2 Tage alten Gelatineplatte (II. Verdünnung) einer Reinkultur von Typhusbazillen, die, seitdem sie aus der menschlichen Leiche gewonnen, bereits zweimal umgezüchtet worden war.

Nr. 41. **Bacillus typhi** 21,5 ×. Diese Oberflächenansiedlung war auf der nämlichen Platte gewachsen (daneben lag in der Tiefe noch eine kleinere Kolonie, die nicht mehr scharf eingestellt werden konnte). Fig. 40 und 41 sollen die Art der Oberflächenausbreitung veranschaulichen; beide Kolonien sind, wenn auch verschieden gross, so doch einander ähnlich, ziemlich flach, nur in der Mitte ein wenig erhaben und am Rande blätterrippenartig gezeichnet.

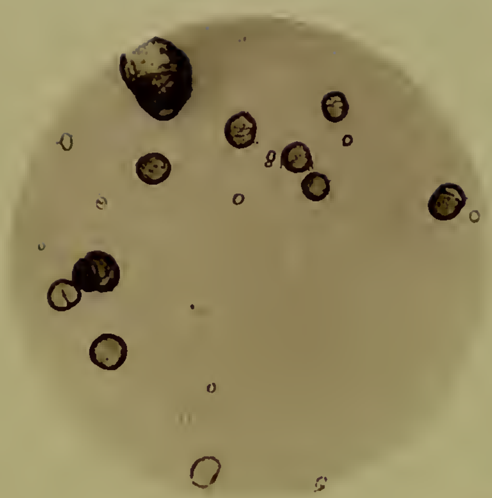
Nr. 42. **Bacillus typhi** 650 ×. Klatschpräparat von einer 1 Tag alten, bei 37° gehaltnen Agarkultur unmittelbar aus der menschlichen Milz stammend. Wir sehen kurze, ziemlich dicke, an den Enden abgerundete Bazillen und nur wenig Scheinfäden, denen wir öfter auf Gelatineplatten, und namentlich bei länger fortgezüchteten Laboratoriumkulturen begegnen.

Nr. 43. **Bacterium coli** 21 ×. Oberflächenansiedlung auf einer 2 Tage bei 20° gehaltnen Gelatineplatte, geimpft mit einer Spur einer diarrhoischen Entleerung. Zahlreiche derartige Kolonien waren angegangen. Man kann sie, ohne einen Fehler zu begehen, als Bacterium coli bezeichnen. Wie verschieden ist diese Kolonie von denen des Typhus auf den ersten Blick! Eine ganz andre Randzeichnung, und die mittlere Zone, mit nur einem stecknadelkopfgrossen Punkt im Innern, nach einer Richtung hin ansteigend und dann schroff abfallend, so dass die steile Partie dem Bild einen tiefen Schatten aufdrückt.

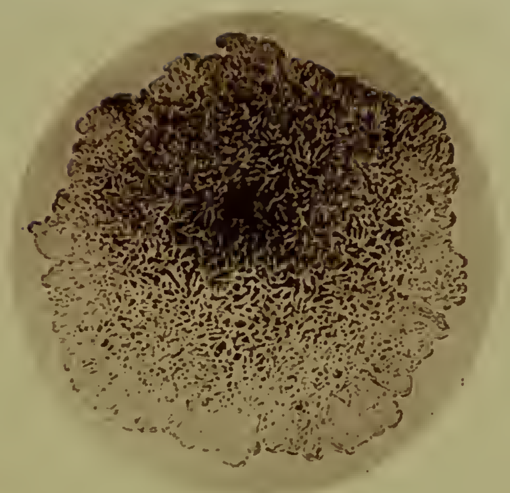
Nr. 44. **Bacterium coli** 650 ×. Ein Klatschpräparat von einer 1 Tag alten Agarkultur, angelegt mit einer Abimpfung von der Gelatineplatte. Wir haben hier dünne, schmächtige, kurze Stäbchen, die sich auffallend von den Typhusbazillen unterscheiden. Andremale freilich kommen in den Fäces oder sonstwo Bakterien vor, die grössere Aehnlichkeiten mit den Typhusbazillen darbieten.

Tafel VII.

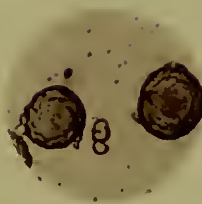
38



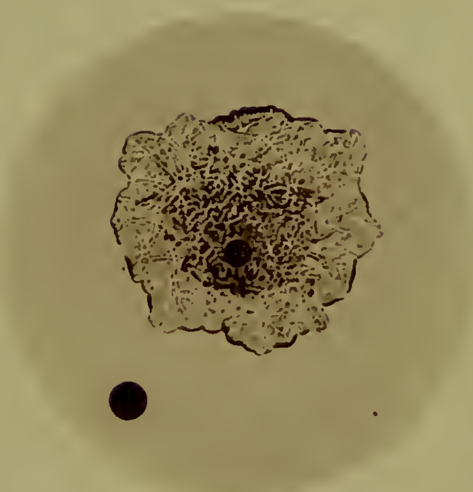
40



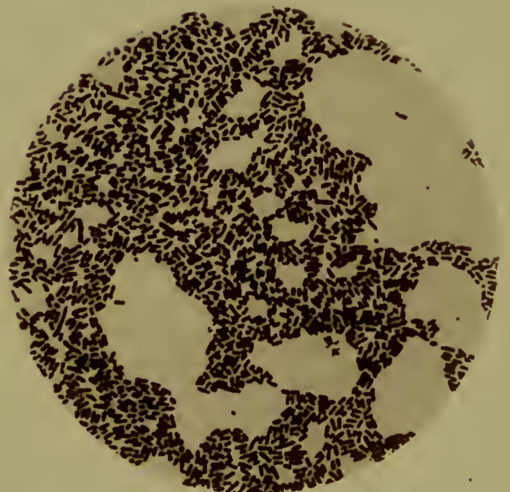
39



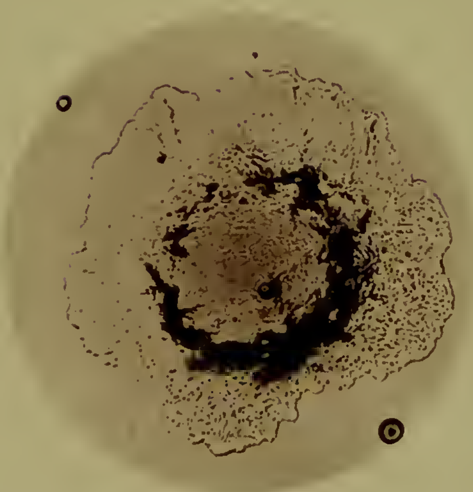
41



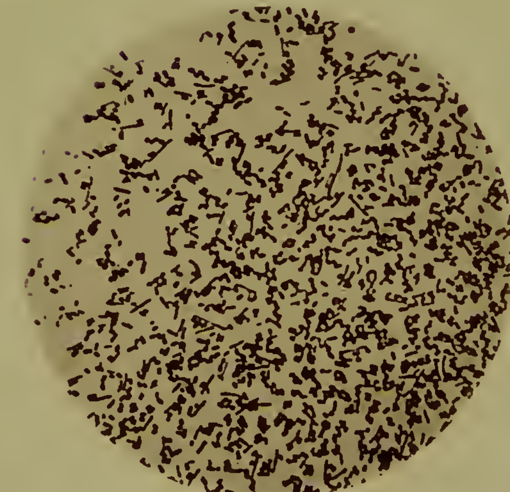
42



43



44



Phot. von Dr. L. Heim. Crayondruck von J. B. Obernetter.

Tafel VIII.

Nr. 45. **Bacillus typhi** mit Geisseln 920 ×. Die Geisseln, gefärbt nach dem S. 179 f. angegebnen Verfahren, gehen sowohl von den Polen, wie von den Seiten ab und liegen auch manchmal abgerissen, einzeln im Gesichtsfeld.

Nr. 46. **Bacillus proteus fluorescens** 650 ×, nach Jaegers Forschungen der Erreger des fieberhaften Ikterus (der Weilschen Krankheit). Das Präparat ist der Abklatsch einer Gelatinekultur, und zwar von einer Stelle, wo ein verflüssigter und ein nicht verflüssigter Bezirk aneinander grenzten (S. 430). Die links liegenden kurzen Glieder gehören dem Teil der Kultur an, wo bereits die Verflüssigung eingesetzt hat. Man gewahrt nur noch wenig Fäden unter ihnen, die aber meistens auch schon eine Andeutung der Gliederung zeigen. Die langen, zu einer knäuelförmigen Masse vereinigten Fäden stehen auf noch nicht verflüssigter Gelatine. Während sie oben zwei Ausläufer über die Gelatine hin schicken, beginnt in deren nächster Umgebung bereits der Zerfall in die kurzen Formen. Dieses, sowie das Präparat Nr. 36, verdanke ich Herrn Stabsarzt Privatdozent Dr. Jaeger in Stuttgart selbst.

Nr. 47. **Penicillium glaucum** 182,4 ×, ein in der Luft unsrer Räume vielfach verbreiteter Pinselschimmel. Ueber die Benennungen der einzelnen Teile dieses und der folgenden Schimmelpilze s. S. 278 ff.

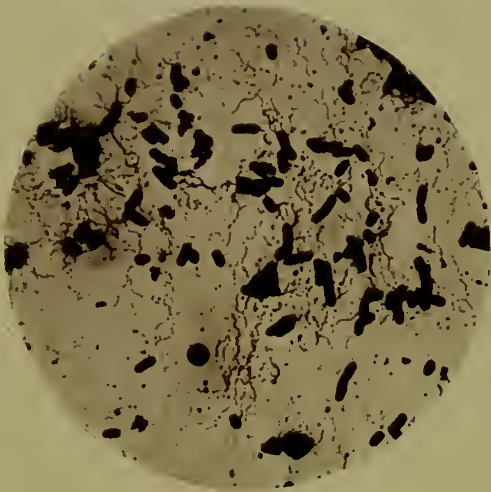
Nr. 48. **Aspergillus fumigatus** 250 ×, ein krankheiterregender Schimmelpilz, auf Brotbrei gezüchtet.

Nr. 49. **Oidium lactis** 250 ×. Dieser auf stehen gelassner Milch sich ansiedelnde Pilz wurde durch das Plattenverfahren isoliert und in Bouillon gezüchtet. Aus der 9 Tage im Brutschrank gewesnen Kultur rührt das Präparat her. Ausser den walzenförmigen, in winkliger Knickung bei einander liegenden Körpern sieht man längere, verzweigte und septierte Fäden und im Innern vieler Zellen kleinere und grössere runde Gebilde.

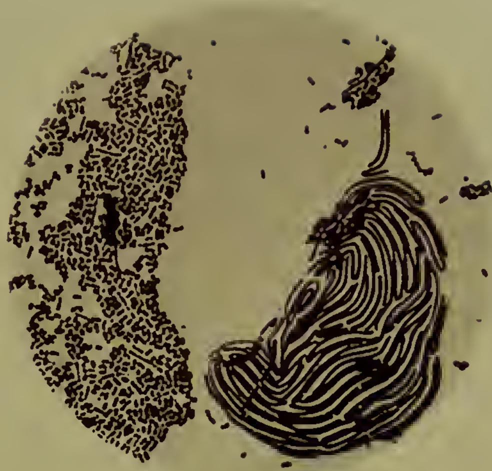
Nr. 50. **Mucor racemosus** 175 ×. Auf einem Stück angefeuchteten Roggenbrots gewachsen. Die Columella scheint durch die äussere Hülle des Sporangiums, die ich durch Druck aufs Deckglas zum Platzen gebracht habe. Aus dem Einriss beginnen die Sporen auszutreten.

Tafel VIII.

45



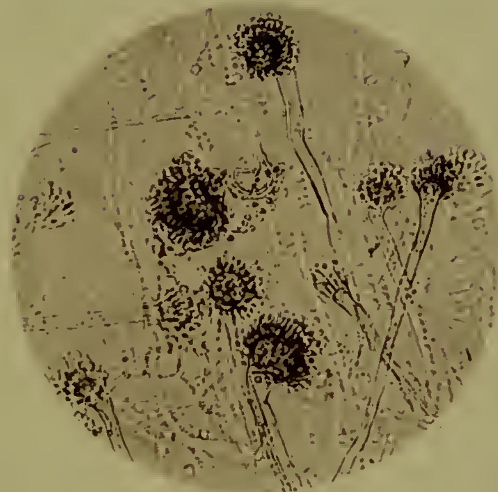
46



47



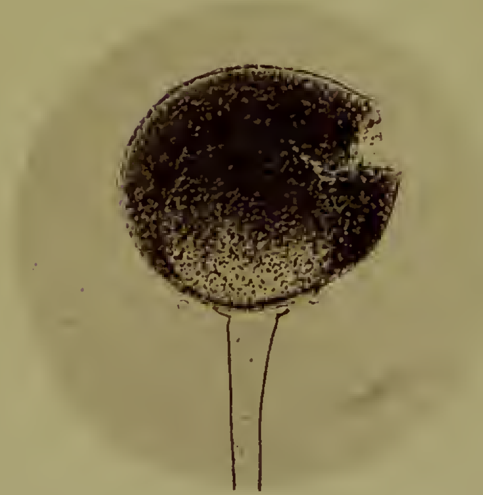
48



49



50



Phot. von Dr. L. Heim.

Crayondruck von J. B. Obernetter.

Virulenz völlig baren, alten Typhuskulturen Meerschweinchen zu töten. Bei jedem folgenden Tiere, das mit der aus dem vorhergehenden gezüchteten Typhuskultur behandelt wurde, waren immer kleinere Mengen der Streptokokkenkulturen nötig, schliesslich konnte man sie ganz entbehren und auch mit der Dosis der Typhuskultur heruntergehen. Nach 25 Passagen war die Virulenz der letztern gleich der frisch aus dem Körper gezüchteten (P. 6. 755; s. a. Vincent, P. 7. 141).

Zu ganz ähnlichen Ergebnissen gelangte Sanarelli unter Verwendung der verschiedensten Bakterien und Bakteriengemische (P. 6. 721).

An hunderten von Tieren haben die genannten Gelehrten ihre Versuche gemacht, aus denen folgendes hervorgeht:

Mäuse erliegen der subkutanen Einspritzung von 0,5 ccm einer frisch aus dem Körper gezüchteten Kultur unter den Erscheinungen der Septikämie.

Kaninchen sind wenig empfänglich; sie erliegen Einspritzungen von 2—4 ccm der Kultur, sei es in die Bauchhöhle oder in die Blutbahn, nur selten. Impfungen in die vordre Augenkammer haben eitrige Entzündungen zur Folge, die meist ausheilten; mitunter stirbt das Tier unter Abmagerung und Kräfteverfall binnen 3—15 Tagen. Weiter in den Körper dringt der Typhusbazillus nicht ein.

Das Meerschweinchen ist das geeignetste Versuchstier. Auffallenderweise bleiben Einspritzungen in die Blutbahn, selbst in starken Mengen oft wirkungslos, während sie, unter die Haut gemacht, eher zum Ziele führen. Am besten ist die Einverleibung in die Bauchhöhle. Dabei genügen schon 1—10 Tropfen virulenter Kultur. Gleichviel aber, auf welchem Wege sie geschah, immer werden nach dem Tode Bazillen auf der Oberfläche der serösen Häute, vornehmlich des Bauchfells, im Bauchfellerguss und im Darminhalt, besonders der dünnen Gedärme gefunden. Diese örtliche Ansiedlung spricht sich schon während des Lebens in Auftreibung und Schmerzhaftigkeit des Unterleibs aus.

In tödlich endigenden Fällen macht sich eine oder wenige Stunden nach der Impfung eine Wärmesteigerung bemerkbar, dann erfolgt ein bis zum Tode zunehmender Wärmeabfall. Der Einspritzung in die Bauchhöhle erliegen die Tiere binnen 8—24—48 Stunden. In der Leiche sieht man serös- oder eitrig-fibrinöse Bauchfellentzündung, Schwellung der Lymphdrüsen im Dünndarm, flüssigen Inhalt, manchmal Milzschwellung und serösen oder blutigen Erguss in die Brusthöhle. Die meisten Typhusbazillen sind im Erguss und an der Oberfläche des Bauchfells, in der Milz liegen sie im Bindegewebe, nahe den Gefässwänden, demnächst ist am reichlichsten die Rindensubstanz der Niere befallen, dann Leber, Niere, Lunge u. s. w. Auch in der Gallen- und in der stets fast leeren Harnblase finden sie sich und nicht selten im Blute von Föten.

Zählte das Versuchstier zu den widerstandsfähigern, oder war die Virulenz der verwendeten Kultur unzureichend, so kommt es zu einem chronischen Krankheitszustand, der binnen 3—12 Tagen unter Abmagerung und Kräfteverfall zum Tode führen kann.

Auch durch Hitze abgetötete Kulturen wirken noch giftig, aber es sind grosse Gaben erforderlich.

Wie schon frühere Untersucher (Beumer und Peiper, Brieger, Kitasato und Wassermann u. a.) zeigten, lassen sich Tiere durch steigende nicht tödliche Mengen gegen sonst tödliche festigen. Das Blutserum der gefestigten Tiere besitzt schützende und heilende Kraft. Das von Menschen, die eine Typhus-

erkrankung durchgemacht haben, enthält derartige Schutzstoffe ebenfalls, jedoch in zu geringem Masse, um zur Heilung Erkrankter oder zur Schutzimpfung verwendet werden zu können.

Bei der **Diagnose am lebenden Kranken** ist entsprechend der Eingangspforte und des zugänglichen Sitzes der Typhusbazillen der Darminhalt das Objekt, dem sich die Aufmerksamkeit des Untersuchers zunächst zuwendet. Der Kliniker verwertet das wässrige oder breiartige Aussehen des Stuhls und seine okergelbe Farbe zur Erkennung der Krankheit. Der Bakteriologe hat bis jetzt mit der Untersuchung der Fäces zum Nachweise von Typhusbazillen wenig Erfolg gehabt. Zwei Punkte sind störend für ihn, einmal das Vorkommen von typhusähnlichen Bakterien im Kot, und dann der Umstand, dass der Typhusstuhl überhaupt wenig Typhusbazillen zu enthalten scheint. Karlinski (C. 6. 67) und Wiltschour (Cr. 7. 280) stimmen darin überein, dass sie nicht vor dem 9. oder 10. Tage nach dem Schüttelfrost gefunden werden, mit dem die Krankheit offenkundig einsetzt, also erst zu einer Zeit, wo die markige Infiltration der Peyerschen Drüsen der Verschorfung und Nekrose Platz macht.

Versuche, die Typhusbazillen dadurch zu isolieren, dass man schädigende Momente auf das Bakteriengemisch einwirken lässt, die für den Typhusbazillus weniger angreifend sein sollen, wie für die typhusähnlichen Bakterien, haben sich sämtlich als erfolglos herausgestellt, denn der Typhusbazillus übertrifft seine Doppelgänger an Widerstandskraft nicht.

Sie wurden hauptsächlich zur Auffindung der Typhusbakterien im Wasser (s. S. 457 f.) unternommen, für die klinische Diagnose haben Grawitz und Menzer (Charité-Ann. 17) die Kälte verwenden wollen, indem sie in Reagensgläser mit keimfreiem Wasser soviel von dem verdächtigen Stuhl gaben, dass starke Trübung erfolgte; dann wurden die Proben in einer Kältemischung im Eisschrank oder im Winter in Schnee vorm Fenster dem Gefrieren ausgesetzt, um dadurch eine Anzahl störender Fäcesbakterien auszuschalten. 12—24 Stunden später wurde die Auftauung und folgende Aussaat auf Kartoffelgelatine mit Karbolsäurezusatz (S. 458) bethätigt. Zur weitern Sicherstellung des Befundes erwies sich der Gärungsversuch von Nutzen.

Derartige Untersuchungen liefern nicht nur ein recht unbestimmtes Ergebnis, sondern sind auch sehr zeitraubend. Der erzielte Erfolg steht nicht im Verhältnis zum praktischen Wert; die bakteriologische Diagnose kommt, wenn man nicht Agarplatten verwendet, sehr spät, und ein negativer Ausfall beweist nichts gegen eine Typhuserkrankung.

Wer mit möglichster Sicherheit den Typhus am Lebenden bakteriologisch diagnostizieren will, ist auf die **Milzpunktion** angewiesen, die mit einer etwas weitern Kanüle ausgeführt wird. Sie liefert nach den Mitteilungen von Phillipowicz, sowie Chantemesse und Widal (J. 2. 176; 3. 152) jedesmal ein positives Ergebnis. Wer richtig aseptisch arbeitet, kann diese Punktion ebenso unbedenklich ausführen, wie den Bruststich zur Gewinnung einer Probe von pleuritischem Erguss oder von Lungensaft. Es kommt allerdings der Einwand in Betracht, dass durch den Einstich eine Verletzung des Milzgewebes und ein Austritt von Blut veranlasst wird, das gleichsam als toter Nähr-

boden im Körper den vorhandnen Krankheitserregern eine willkommene Stätte zur Ansiedlung und herdartigen Vermehrung bietet. Doch dürfte er durch den stets günstigen Ausgang entkräftet sein, den die genannten Forscher bei dieser kleinen Operation hatten. Zur Anwendung soll der Milzstich aber nur in wirklich zweifelhaften Fällen kommen, wenn durch die Klarlegung der Diagnose dem Kranken oder seiner frühern und augenblicklichen Umgebung genützt werden kann.

Unter Umständen lässt sich auch der Harn für die bakteriologische Typhusdiagnose verwenden, jedoch nur, wenn, wie aus den Arbeiten von Wyssokwitsch (Z. 1. 1) zu entnehmen und von Neumann thatsächlich bestätigt ist, in der Niere krankhafte Veränderungen, örtliche Gewebschädigungen Platz gegriffen haben, was gewöhnlich gleichzeitig mit dem Auftreten von Roseolen auf der Haut zusammentrifft. In solchen Fällen wird der Urin auch stets Eiweiss enthalten, mitunter kann er sogar durch die mitgeschwemmten Typhusbakterien getrübt sein.

Aus den bisherigen Veröffentlichungen berechnen sich 3,6 % der Fälle, wobei der fragliche Nachweis sowohl während der Krankheit selbst, wie in der Wiedergenesung gelang. Seitz*) traf den Typhusbazillus im Harn bei 7 Fällen zweimal an, Hueppe unter 18 Fällen einmal, Konjajeff (Cr. 8. 678) unter 20 Fällen dreimal, Karlinski (Cr. 8. 702) unter 44 Fällen 21mal, zuweilen schon am dritten Tage der Krankheit, und Neumann (B. 90. 121) bei 48 Kranken elfmal, worunter 2 Fälle, wobei das Exanthem ungewöhnlich stark zur Ausbildung gekommen war, so dass ein Zweifel herrschte, ob Unterleibs- oder Flecktyphus bestehe; die bakteriologische Untersuchung brachte den Entscheid für Unterleibstyphus.

Für die Entnahme von Harnproben gelten die S. 427 angegebnen Vorsichtsmassregeln.

So gut wie ungeeignet für die Diagnose sind Aussaaten vom Blut der Kranken, denn die Bazillen werden nur selten im Kreislauf getroffen. So wenig wie Gaffky konnte sie Curschmann darin finden und nur einmal unter 35 Fällen traf sie Wiltschour an. Etwas bessre Ergebnisse lieferten Entnahmen von Roseolen. Neuhauss züchtete sie daraus unter 15 Fällen neunmal, andre aber, die dasselbe versuchten, waren weniger glücklich (s. Janowski, C. 5. 657).

Die typhöse Erkrankung ist bekanntlich gar nicht selten mit mancherlei **Begleit-** und **Nachkrankheiten** verbunden, die man vielfach als Mischinfektion oder besser gesagt Sekundärinfektion ansah. Es stellte sich aber allmählich heraus, dass eine ganze Reihe solcher Zufälle auf Rechnung des Typhusbazillus selbst zu setzen seien. Diese Thatsache ist wichtig und wert, wo irgend möglich durch bakteriologische Untersuchung solcher nachträglicher Krankheitsherde immer mehr bestätigt zu werden.

A. Fränkel**) hat als der erste bei einem Manne, der einen

*) Bakteriologische Studien zur Typhusätiologie. München 1886 bei Finsterlin.
**) Verhandlungen des 6. Kongresses für innere Medizin 87. 119.

Unterleibstyphus mit Rückfall und wiederholt Rotlauf durchgemacht hatte, im Abscess des Bauches noch 5 Monate nach Ausbruch der ersten Erkrankung lebens- und entwicklungsfähige Typhusbakterien nachgewiesen. Eine derartige, wie sie Senator (B. 89. 536) bezeichnet, **anenterische Lokalisation** des Typhusgiftes wurde in der Folge mehrfach festgestellt; so bei nachträglicher eitriger Bauchfellentzündung und Vereiterung der Gekrösdrüsen, im eitrigen Inhalt von Eierstockscysten (hier noch 8 Monate nach Ablauf des Typhus; Werth, D. 93. 489), bei Ergüssen in die Brusthöhle und bei Eiterung an der vordern Brustwand, bei eitrigem Mittelohrkatarrh, namentlich aber bei Eiterungsvorgängen der Knochen, speziell der Tibia *). Solcher Typhuseiter zeigt ein eigentümliches Aussehen, er wird als dünnflüssig oder serös, gelbbraun bis braun, von fadem Geruch beschrieben **). Manchmal ist keine Eiterung vorhanden, sondern nur eine eigenartige Entzündung des Gewebes, das hart infiltriert, verdickt erscheint und im Innern einen Pfropf von grau- bis dunkelroter Farbe einschliesst***). Orlow (D. 90. 1086) begegnete dieser Erscheinung an der Tibia einer 22jährigen Kranken 8 Monate nach Beginn und 6½ Monate nach dem Aufhören des Typhus, woraus zu ersehen, wie ausserordentlich lange sich noch der Bazillus im Körper lebensfähig erhalten kann.

Die bei der Krankheit ab und zu beobachteten Krampfanfälle (Freyhan, D. 88. 631) fanden ihre bakteriologische Begründung durch den Nachweis von Typhusbazillen in den peripheren Teilen der Grosshirnrinde und in den Zentralwindungen (Silva, Cr. 11. 202) oder im eitrigen Belage der Hirnhaut (Kamen, Cr. 7. 280).

Ja selbst ohne örtliche Ansiedlung in der Darmwand oder wenigstens ohne nachweisbare Veränderung an diesem Organ scheint die typhöse Ansteckung an andern Stellen im Körper ihren Sitz aufzuschlagen. Eine derartige **atypische Lokalisation** der typhösen Infektion beobachtete Banti (Dr. 88. 605) in der vergrösserten Milz und in den vereiterten Gekrösdrüsen und sprach deshalb im Gegensatz zum Ileotyphus von einem Adenotyphus, und Chantemesse (Cr. 7. 613) äusserte sich zur Möglichkeit des Vorkommens einer Typhusseptikämie ohne vorausgegangene Darmerkrankung.

Ich habe bisher bloss solche Fälle berücksichtigt, wobei das Vorhandensein der Typhusbazillen durch die Kultur festgestellt ist. Von Fällen, wo das nur mikroskopisch geschah, nenne ich als interessant den Befund E. Fränkels in der Zungenschleimhaut von Typhusleichen, auf deren Untersuchung ihn die angeschwollnen Zungenbalgdrüsen und ihre histologische Aehnlichkeit mit dem Bau des Follikelapparats des Darms führten (D. 88. 443). Die grosse Vertrautheit dieses Forschers mit den Form- und Lebenseigenschaften der Typhusbazillen bürgen für die Richtigkeit seiner Beobachtung. Dadurch wird aber die Regel nicht

---

*) Lehmann, C. f. klin. Med. 91 Nr. 34. Kelsch, H. 2. 611. Weintraud, B. 93. 345. Valentini, B. 89. 368. Destrée, Cr. 8. 366. Ebermayer, D. Arch. f. klin. Med. 89. 142. Cornil, H. 1. 922. Achalm, Cr. 8. 101. Hintze, C. 14. 445.

**) A. Fränkel, Werth, Fasching (W. klin. W. 92 Nr. 18).

***) Rosin und Hirschel, D. 92. 493.

erschüttert: Durch die mikroskopische Untersuchung allein lässt sich der Typhusbazillus niemals mit Sicherheit erkennen.

Der **Nachweis des Typhusbazillus in der Leiche** führt nicht selten erst zur vollständigen Sicherstellung der während des Lebens zweifelhaft gebliebnen Diagnose. Da die verschiedensten Organe zur Verfügung stehn, ist die Arbeit selbstverständlich viel leichter, als beim Lebenden.

Gewöhnlich bringt man Stückchen von der Milz zur Aussaat. Das Organ wird in der S. 286 oder 289 angegebnen Weise behandelt und eröffnet. Mit einer geglühten, nicht mehr zu heissen Pinzette reisst man ein Stückchen des Gewebs heraus, überträgt es mit einem Platindraht in ein Röhrchen mit verflüssigter Nährgelatine, und legt es zunächst innen an der Glaswand nieder, ohne es in die Gelatine zu tauchen; dann drückt man den Saft mit einem starken Platindraht heraus und vermischt ihn mit dem Nährmittel. Hierauf kann man entweder dasselbe Stückchen oder ein andres aus dem Organ vorsichtig entnommenes Teilchen benützen, um einen Impfstrich auf einem oder zwei dazu vorbereiteten Agarschälchen anzulegen und zuletzt dünne Ausstrichpräparate auf Objektträgern für die Färbung herzustellen. Die Agarschälchen werden mit dem Deckel nach unten unter eine Glasglocke in den Brutschrank von 37° gestellt; die Aussaat in Gelatine wird zur Anlegung von zwei Verdünnungen benutzt; die damit gegossnen drei Platten kommen, wenn die Gelatine gehörig fest geworden ist, in einen Brutschrank, der auf 22° eingestellt ist, oder bleiben bei Zimmertemperatur vor Licht geschützt stehen.

Agarschälchen liefern schon in weniger als 24 Stunden ein verwertbares Ergebnis. Findet man bei der mikroskopischen Durchmusterung mit schwachem System die durchscheinenden Ansiedlungen, so wird davon abgeimpft, zuerst auf ein frisches Agarschälchen, sodann wird ein hängender Tropfen angelegt und ein gefärbtes Präparat gemacht. Zeigen sich die beweglichen Kurzstäbchen, so nimmt man weitre Abimpfungen in Gelatine (Stichkultur und Scheiben), auf Kartoffeln und in Gärungsröhrchen mit Fleischwasser vor.

Gelatineplatten lassen bei geeigneter Temperatur (18—22°) am zweiten Tage nach der Aussaat die früher beschriebnen und mehrfach abgebildeten Kolonien erkennen. Das Aussehen der Ansiedlungen auf ihnen ist bezeichnender, wie auf der Agaroberfläche und gewährt der Diagnose eine grössre Sicherheit. Aber auch von den Gelatineplatten muss man dieselben Abimpfungen machen, wie von den Agarschälchen, wenn man sich vor Täuschungen bewahren will.

Die bakteriologische Typhusdiagnose erfordert deshalb immer mehrere Tage Zeit.

Bei der Entnahme des Aussaatmaterials und bei der Beurteilung des bakteriologischen Befundes ist die grösste Vorsicht geboten. Es kann auch beim Menschen vorkommen, was Sanarelli (P. 4. 736) wiederholt beim Tiere festgestellt hat, dass Kolibazillen infolge der durch die typhöse Erkrankung gesetzten Verletzungen der Darmwand in die Organe eindringen; wenn man jedoch die Leichenöffnung nicht zu spät

machte, so waren sie nach Sanarelli meist nicht weiter als in die Bauchhöhle, niemals ins Parenchym der Organe oder ins Blut vorgedrungen.

Liegt eine Typhusleiche länger, so kommt es nicht nur zur Vermehrung von etwa nachträglich den Körper durchsetzenden Koli- oder Fäulnisbakterien, sondern es vermehren sich auch die Typhusbazillen. Sie bilden dann an den Stellen, wohin sie schon während des Lebens gelangt waren, eigentümliche, sogar als bezeichnend angesehene haufenartige Zusammenlagerungen.

E. Fränkel und Simmonds haben das im Versuch bewiesen. Eine Milz, in der 8 Stunden nach dem Tode und gleich nach der Entnahme aus der Leiche kein einziger Typhusbazillus aufzufinden war, zeigte, in Sublimattücher gewickelt, nach 24stündigem Liegen massenhafte Bazillenherde, die sich nach weitern 24 Stunden vermehrt und namentlich bedeutend vergrössert hatten. Sie empfehlen daher allen, die sich mit der Untersuchung von Typhusorganen beschäftigen, einige Stückchen des Organs sogleich in Alkohol zu legen, andre erst, nachdem sie 1 Tag lang in Sublimattüchern aufbewahrt worden waren. Natürlich kann dieser Vorschlag ausschliesslich für die mikroskopische Auffindung von Bazillen gelten; und dabei ist noch nicht erwiesen, ob das dann immer Typhusbazillen sind*).

Schnitte aus den in Alkohol gehärteten Organen, wovon Milz, Leber und Gekrösdrüsen am geeignetsten sind, werden mit verdünntem Karbolfuchsin, mit Karbolmethylenblau oder basisch Blau 3—30 Minuten lang gefärbt und nach einem der S. 47 aufgeführten Verfahren weiter behandelt. Es eignen sich auch die für die färberische Darstellung der Rotzbazillen (S. 303) angegebnen Methoden.

Der Nachweis der Choleravibrionen

im Darminhalt ist mit weniger Schwierigkeit verbunden und gelingt in kürzrer Zeit wie der der Typhusbazillen. Wenn er auch dem Untersucher weniger Verlegenheiten bereitet, so gehört doch ein Vertrautsein mit den Wachstums- und Lebenseigentümlichkeiten der Cholerabakterien und mit den einschlägigen Methoden ihres Nachweises notwendig dazu. Darum wurden bald nach der Entdeckung der Kommabazillen durch Koch unter seiner Leitung die sog. Cholerakurse im kaiserlichen Gesundheitsamte für beamtete Aerzte abgehalten, die beim Wiederauftreten der Seuche an diesem Reichsinstitute und an andern wissenschaftlichen Anstalten Deutschlands mehrfache Wiederholung fanden. Bei den mannigfachen Belehrungen und Anregungen zum Weiterarbeiten konnte es nicht ausbleiben, dass mit der Zeit die Kunst des Nachweises der Choleravibrionen immer weitre Verbreitung unter den Aerzten gewann, auch wenn sie auf der Universität keine Gelegenheit hatten, sich mit ihr vertraut zu machen. Stets wird es mir erinnerlich bleiben, wie ich selbst seinerzeit, in einer Provinzialstadt, von dritter Hand die Art und Weise der Nährbodenbereitung und der einfachen Untersuchungsmethoden absah, die ein gerade von den damaligen ersten Cholerakursen zurückgekehrter Medizinalbeamter den Kollegen in der

*) Die ätiologische Bedeutung des Typhusbazillus. Leipzig bei L. Voss. 1886.

Kreishauptstadt gezeigt hatte. Dem dafür sich interessierenden Arzte kann es nicht schwer fallen, sich bald die nötige Einsicht und Geschicklichkeit anzueignen, namentlich, wenn es ihm ermöglicht ist, in einem selbst kleinen Krankenhause eine geeignete Stätte für die einschlägigen Untersuchungen einzurichten.

Die **Choleravibrionen** sind kurze, gekrümmte Stäbchen, kleiner als die Tuberkelbazillen, mit abgerundeten Enden, die nicht in einer Ebene liegen, sondern in verschiednen, etwa wie es bei kleinen Abschnitten eines Korkziehers der Fall sein würde. Die Vibrionen sehen oft mehr gerade gestreckt aus, je nach der gelegentlichen Wuchsform oder je nach der Lage, wenn sie dem Beschauer die gewölbte Seite zukehren. Konnte die Abtrennung der einzelnen Zellen nicht vollständig zu stande kommen, so bleiben S-Formen oder längere Spirillen zurück, bei besondrer Aneinanderlagerung zweier Zellen können ε-Formen entstehen.

Im hängenden Tropfen sieht man bei lebenskräftigen Kulturen eine ausserordentlich flinke Eigenbewegung, trotzdem die Bakterien nur eine Geissel an jedem Ende besitzen, was sich durch die Beizung (Fuchsintinte mit $^1/_2 - 1$ Tropfen der auf $1\,^0/_0$ Schwefelsäure eingestellten Natronlauge S. 179) und Färbung erkennen lässt. Die Bewegung der einzelnen Vibrionen, wie der starren korkzieherähnlichen Verbände ist eine deutlich schraubenförmige. Bei ältern Kulturen oder bei niedrer Temperatur, in ungeeigneter Flüssigkeit u. dgl. ist sie nur schwach oder überhaupt nicht vorhanden.

Alle Vibrionen werden am besten mit Fuchsin gefärbt. Als das geeignetste Färbemittel hat sich eine stark (1 : 10—1 : 20) verdünnte Karbolfuchsinlösung bewährt, die 5—10 Minuten auf das dreimal durch die Flamme gezogne Präparat einwirken soll. Anwendung einer nicht oder nur wenig verdünnten Karbolfuchsinlösung hat die Erscheinung heller, ungefärbt bleibender Lücken zwischen den stärker gefärbten Polen zur Folge, die die Zellen ältrer Kulturen auch ohne den schädigenden Einfluss der $5\,^0/_0$igen Karbolsäure zeigen. Ganz alte Kulturen bestehen fast nur aus kleinen runden Kügelchen, die sich ziemlich ablehnend gegen die Farbstoffaufnahme verhalten. Diese Entartungsformen haben Hueppe und de Bary als Dauerformen, sog. Arthrosporen (S. 191) angesehen. Es gilt aber als ausgemacht, dass die Cholerabakterien keine Sporen bilden. Sie sind verhältnismässig wenig widerstandsfähig, viel weniger, als die Typhusbazillen u. v. a. und gehen z. B. bei $60\,^0$ in längstens 10 Minuten zu Grunde.

Bei der Anwendung der Gramschen Methode verlieren sie den Farbstoff.

Ein sehr wichtiges Erkennungsmittel für die Choleravibrionen ist die Art ihres Wachstums in schwach alkalischer Nährgelatine.

Nach Hesses Untersuchungen (S. 204) ist ein Prozentgehalt des Nährbodens von 0,01—0,023 krystallisierter Soda für die Entwicklung der Cholerabakterien am geeignetsten. Man braucht also eine Gelatine, der nach der Neutralisierung mit Natronlauge 0,8—1,6 oder rund 1 ccm Normalsodalösung auf je 100 ccm zugesetzt worden sind.

Auf nicht allzu dicht besäten Gelatineplatten (2. und 3. Verdünnung), die im Brutschrank bei $22\,^0$ oder in einem entsprechend

warmen Zimmer in der feuchten Kammer gestanden haben, sieht man bereits nach 15—20 Stunden mit blossem Auge eine feine Mattierung, wie wenn viele feine Nadelstiche hineinpunktiert worden wären, und unter dem Mikroskop bei 50—100facher Vergrösserung mit schwachem Trockensystem, mittelstarkem Okular und engster Blende unter dem Kondensor kleine, nicht völlig kreisrunde, lichtbrechende Kolonien, deren mit einem feinen, hellen Saume umgebner Rand eine leichte Zähnelung erkennen lässt, während im Innern eine Anhäufung feinster Körnchen wahrzunehmen ist, die Koch mit durcheinander gelagerten Glasbröckchen verglichen hat. Sie werden noch deutlicher bei etwas ältern Ansiedlungen, die bei genauem Zusehen den Eindruck einer gewissen Unruhe machen, eine Folge der fortwährenden Bewegung der sie zusammensetzenden, geisseltragenden Vibrionen. Mit der Grössenzunahme tritt auch die Zähnelung des Randes mehr hervor und der lichtbrechende Saum hat sich verbreitert. Er ist der Ausdruck der durch das Peptonisierungsvermögen der Cholerabakterien bewirkten Verflüssigung. Diese schmale, nach unten trichterförmig verlaufende Verflüssigungszone zeigt unterm Mikroskop bei verschiedner Einstellung andre und zwar gerade entgegengesetzte Erscheinungen. Sie beeinflusst nämlich, wie R. Pfeiffer (D. 92. 814) treffend beschrieb, den Gang der Lichtstrahlen, wie wenn eine Konkavlinse zwischen Spiegel und Objektiv eingeschoben wäre. Daher leuchtet die Cholerakolonie sternartig auf, wenn man absichtlich den Tubus unter die richtige Einstellungsebene senkt, und sie wird dunkel bei hoher Einstellung. Nicht verflüssigende Kolonien andrer, etwa in den Platten enthaltner Bakterienarten wirken gerade umgekehrt; sie brechen das Licht, wie Konvexlinsen, und sehen daher bei tiefer Einstellung dunkel aus, während sie beim Heben des Tubus das Licht konzentrieren und hell erscheinen. Diese Differenz im optischen Verhalten erleichtert es dem Ungeübten sehr, vereinzelte Cholerakolonien unter zahlreichen andersartigen Kolonien herauszufinden (Photogr. Taf. VI Nr. 37).

In sehr hübscher Weise stellt sich der Verflüssigungstrichter in den Gelatinestichkulturen dar, der sich schon am ersten bis zweiten Tage nach der Einsaat bemerklich macht und bei geeigneter Nährgelatine und Wärme bald grösser wird. Die Wände des Trichters gehen nicht gerade nach unten, sondern sie sind leicht nach aussen gewölbt; das Bild erinnert darum mehr an die Form eines Scheidetrichters, dessen obrer Eingang enger ist, wie seine Ausbauchung. Obenauf glaubt man eine Luftblase zu sehen, eine optische Erscheinung, die ihren Grund in einer raschern Wasserverdunstung hat. Im spitz nach unten verlaufenden Stichkanal sammeln sich innerhalb der verflüssigten Gelatine Massen von Vibrionen in spiralig gewundnen, gelblichen Knäueln und lagern sich bei weiterschreitender Verflüssigung am Boden ab. Die überstehende Flüssigkeit wird dann klar, auf ihrer Oberfläche schwimmt oft ein trocknes, buchtiges Häutchen, ihre Farbe wird mit der Zeit dunkel gelblichbraun und nimmt manchmal mit dem Bodensatz eine rosige Färbung an.

Auf der Agaroberfläche bilden die Cholerabakterien weniger bezeichnende Ansiedlungen. Aber wegen der Möglichkeit, bei diesem durchsichtigen Nährboden Körperwärme einwirken zu lassen, können

wir seiner nicht entbehren. Wie gewöhnlich giessen wir den keimfreien, im Sieden verflüssigten Nähragar in Doppelschälchen aus und verstreichen nach seinem Erkalten das Impfmaterial auf der nach unten gehaltnen Oberfläche mit einer dünnen Platinschlinge in nicht zu nahe aneinander liegenden Zügen. Bei Brutschrankwärme bilden sich schon binnen wenigen Stunden dünne, durchscheinende Rasen, die auch nach längrer Zeit ihre Durchsichtigkeit bewahren und sich dadurch von andern etwa gleichzeitig ausgesäten Bakterien unterscheiden lassen.

Gerade bei der Choleraforschung hat das Schwitzwasser, das sich auf der Oberfläche des Agars sammelt, den Untersuchern Hindernisse bereitet, so dass z. B. Schiller (D. 93. 639) auf das unbequeme Mischen und Ausgiessen des geimpften Nähragars zurückging. Und doch lässt sich der Missstand so leicht beseitigen, wenn man die Schalen umgekehrt (allenfalls auch schon einige Stunden vor der Impfung) unter eine Glasglocke (nicht in eine feuchte Kammer) in den Brutschrank stellt; überdies kann man dem Schälchen durch eine kleine Unterlage noch eine leicht geneigte Lage geben, was ich aber nicht für unbedingt nötig erachte.

Freymuth und Lickfett, denen dieser kleine Kunstgriff ebenfalls entging, nahmen zur strichförmigen Aussaat statt des Platindrahtes einen aus dicken Seidenfäden von etwa 1½ cm Länge und einem Holzstiel hergestellten Pinsel, der vorher durch Kochen sterilisiert worden war. Sie tauchten ihn in die verflüssigte, mit 2 Oesen des zu untersuchenden Kotes vermischte Nährgelatine, befreiten ihn durch Abstreichen an der Wand des Glases vom Ueberschuss an aufgenommenem Material und strichen dann möglichst zart über die Oberfläche des Nährbodens. Sie verwendeten Glyzerinagargelatine, die sie auf Objektträger ausbreiteten und impften, so lange sie noch flüssig war. Die Farbe der gewachsnen Kolonien, deren Durchmesser nach 5—6stündigem Aufenthalt im Brutschrank zwischen ½ und 2 mm schwankte, beschreiben sie als glänzend helles Stahlblau bis zu stumpfem Braun; in den braunen und in einem Teil der blauen Kolonien sah man deutlich ein Mosaik aus gleichmässig gestalteten, schwarzen Strichen und Punkten. Einem andern Teil der blauen Kolonien fehlte diese mosaikartige Differenzierung des Inhalts vollständig. Einige waren ganz homogen, andre, wie fein bestäubt, wieder andre verwischt, chagriniert und in der Mitte schollig zerklüftet. Der blaue Glanz wurde mit der Vergrösserung, ohne ganz zu verschwinden, schwächer, die Form, vorher fast kreisrund, unregelmässig rund, die Begrenzungslinie vielfach feinzackig (D. 93. 457).

Den Missstand, dass die Cholerabakterien auf Agarplatten so wenig bezeichnende Ansiedlungen bilden, hat Zabolotny durch die Anwendung von ebenfalls brutbeständigen Eiweissplatten zu vermeiden gesucht (D. 93. 1353). Dazu wurde Hühnereiweiss nach J. Rosenthal und Schultz oder nach Tarchanoff und Kolesnikoff (s. S. 93) behandelt, mit oder ohne Zusatz von Nährgelatine. Das so erhaltne Natronalbuminat wurde in Doppelschälchen ausgegossen und im Dampf sterilisiert. Zur Aussaat des Kotes machte Z. erst drei Verdünnungen, wie beim Plattenverfahren und benetzte damit je ein Schälchen. Der Ueberschuss an Flüssigkeit wurde abgegossen. Dann wurden die Kulturschälchen schräg in den Brutschrank gestellt, damit sich die überschüssigen Flüssigkeitstropfen an einer Seite ansammeln konnten. Es war dadurch gleichzeitig einer Austrocknung der Oberfläche vorgebeugt.

Der Vorteil dieser brutbeständigen Eiweissplatten liegt nach Z. darin, dass die Cholerabakterien ihr bezeichnendes Peptonisierungsvermögen entfalten können. Daran sind sie bereits nach 5—6 Stunden unter dem Mikroskop erkenntlich; die Abimpfung der Reinkultur kann mit grössrer Sicherheit als bei der Agarplatte erfolgen. Nach weitern 5—6 Stunden hat man dann die Reinkultur.

Die Cholerabakterien werden mitunter in Varietäten getroffen, die auf den Platten, namentlich mit Gelatine, von der gegebnen Beschreibung mehr oder weniger abweichen, und selbst nur geringes Verflüssigungsvermögen besitzen können. Der Kundige wird aber doch auf sie aufmerksam und vermag sie selbst in ihrer veränderten Gestalt noch richtig zu erkennen.

Ein ausserordentlich wichtiges Hilfsmittel für den Choleranachweis sind flüssige, durchsichtige Nährboden, Bouillon und besonders Peptonwasser. Nicht als ob die Cholerabakterien darin mit besonders augenfälligen Eigentümlichkeiten wüchsen. Sie trüben die Lösung zumeist und bilden an der Oberfläche ein sprödes, mehr weniger brüchiges, oft feinfaltiges oder welliges Häutchen, das bei frisch aus dem Körper gezüchteten Kulturen wohl auch fehlen kann. Der wesentliche Vorteil liegt hier in der Flüssigkeit, die den rasch beweglichen, nach Sauerstoff begierigen Choleravibrionen ungehindert an die Oberfläche zu kommen erlaubt. Da die Vibrionen selbst bei gleichzeitiger Anwesenheit und Entwicklung andersartiger Keime zu ausgiebigster Vermehrung schreiten, so kann man sie dort in grosser Ueberzahl, fast in Reinkultur mit einem Tröpfchen der Flüssigkeit oder als Hautstückchen herausfischen, wenn man nur Sorge trägt, das Gläschen recht behutsam anzufassen, damit der Inhalt nicht gerüttelt und vermischt wird. Noch mehr wie Bouillon eignet sich nach Koch Peptonwasser zur Züchtung, wenn gleichzeitig andre Bakterien, z. B. bei Aussaaten von Darminhalt, Fäulnisgemischen u. s. w., mit eingebracht wurden, weil einerseits durch die Bouillon den andern Bakterien zu viel Nährstoff zugeführt wird, andrerseits die Choleravibrionen in der Peptonlösung sehr gut gedeihen. Ausserdem gibt die Kultur in Peptonwasser die auf Säurezusatz eintretende Rotfärbung besser, als Bouillon.

Zur Bereitung des Peptonwassers löst man 1 oder 2 % Peptonum sicc. (Witte) und 1 % Kochsalz in destilliertem Wasser auf. Es kann auch gewöhnliches Wasser genommen werden, nur muss es völlig frei von salpetriger und Salpetersäure sein (wegen der Rotreaktion). Ist die Lösung nicht alkalisch genug, so setzt man noch Normalnatronlauge, etwa bis zu 1 % zu. Selbst das Wittesche Pepton wird nicht stets ganz gleich geliefert und muss deshalb vor der Verwendung immer erst auf seine Fähigkeit, den Cholerabakterien als gutes Nährmittel zu dienen, mit Hilfe von Reinkulturen geprüft werden (Koch).

Die auf Säurezusatz entstehende Rotfärbung ist eine Indolreaktion (S. 212), die, da die Choleravibrionen neben Indol gleichzeitig salpetrige Säure bilden, auf Zusatz von wenigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure zu tage tritt. Die Schwefelsäure muss chemisch rein, frei von Salpeter- und salpetriger Säure (pro analysi) sein. So viele Indolbildner es unter den Bakterien gibt, so wenige erzeugen nebenbei salpetrige Säure. Nächst den Choleravibrionen thun es in ähnlicher Weise der von Gamaleia bei einer Geflügelepizootie gefundne, für junge Hühner und Tauben sehr pathogene „Vibrio Metschnikoff“, sowie einige andre Vibrionen, die aber bei der Untersuchung von Darminhalt nicht in Betracht kommen und sich durch die Art ihres Wachstums in Gelatine von den Cholerabakterien unterscheiden. Auch lassen sich kleine Abstufungen bemerken; die in den Kulturen des Metschnikoffschen Vibrio auf Schwefelsäurezugabe

erscheinende Rötung hat mehr einen Stich ins Gelbliche, während die der Choleravibrionen einen tiefern, bläulichen, selbst violetten Ton zeigt. In der That hat Brieger ausser dem „Cholerarot“ noch ein „Cholerablau“ isoliert. Diese Abtrennung gelang nach Behandlung mit Schwefelsäure und Natronlauge, Ausschüttlung mit Aether, Verjagung des Aethers, Entfernung des Rotes mit Benzol und Wiederlösung des Blau in Aether (B. 87. 818).

Vereinzelt wurden während der 1892er Choleraepidemie Stimmen laut, dass die Indolreaktion bei frisch aus dem Körper gezüchteten Cholerakulturen nicht gelänge (C. Fraenkel D. 92. 925). Die Ursache ist nicht sicher geklärt. Weyl führte seine anfänglichen Misserfolge auf einen unrichtigen Grad der Alkaleszenz zurück (D. 92. 833).

In Milch entwickeln sich die Choleravibrionen reichlich, ohne sie sichtlich zu verändern. Eine Ausnahme von dieser Regel macht die Mitteilung von E. Fränkel, derzufolge die Vibrionen der Hamburger Epidemie in Milch Gerinnung hervorriefen, die manchmal schon nach 24 Stunden, andremale, namentlich in lange gekochter Milch, erst nach einer Reihe von Tagen eintrat, und durch Mitübertragung von Teilen des Oberflächenhäutchens aus alten Gelatinekulturen begünstigt werden konnte (D. 92. 1048). Auch Fischer in Kiel beobachtete Gerinnungserscheinungen mit folgender Peptonisierung der Milch im Brutschrank nach 2—4 Tagen, was bei den aus frühern Epidemien herstammenden Kulturen nicht der Fall war (D. 93. 598).

Auf Kartoffeln kommen die Cholerabakterien für gewöhnlich bloss bei Körperwärme unter Bildung eines braunen Rasens fort. Manche Kartoffeln sind ungeeignet zur Kultur (P. Friedrich K. A. 8. 87; Krannhals C. 13. 34). Nach Voges kann man aber das Wachstum schon bei 20° erzielen, wenn man die schräg halbierten Kartoffelcylinder in Reagensröhrchen sterilisiert, hierauf mit einer vorher für sich sterilisierten und erkalteten 3 %igen Kochsalz- oder 1/2 %igen Sodalösung überschichtet und nur so lange in Berührung lässt, bis die Kartoffel einen gelben Ton annimmt, worauf die Salzlösung abgegossen wird. (Natriumsalze sind für das Gedeihen vorteilhafter als Kaliumsalze; C. 13. 543.)

Die Choleravibrionen erzeugen bei ihrer Entwicklung Gerüche von eigentümlich aromatischem, nicht näher beschreibbarem Charakter. Sie werden besonders sinnfällig, wenn eine grössere Anzahl Kulturen in einem geschlossnen Spind längere Zeit zusammengestellt waren. Zur diagnostischen Verwertung ist jedoch dieses Merkmal zu unbestimmt, als dass sich damit auch nur einigermassen verwertbare Anhaltepunkte gewinnen liessen.

Die Kulturen der Cholerabakterien leuchten nicht im Dunkeln. Es kann das in zweifelhaften Fällen als entscheidendes Merkmal dienen, da es Vibronen mit Leuchtkraft gibt, die den Cholerabakterien sonst sehr ähnlich sind. Ihr Fundort ist das Wasser, bis jetzt das Stromgebiet der Elbe und Saale gewesen, wohin sie wahr-

scheinlich vom Meere gelangten, das verschiedene Arten von Leuchtbakterien enthält*).

Aber auch aus den Darmentleerungen einiger Hamburger Personen wurden solche leuchtende Vibrionenkulturen gewonnen, die sich allerdings durch schnelleres und atypisches Wachstum in der Gelatine auszeichneten. Kutscher, der auf die leuchtende Eigenschaft dieser Bakterien zuerst aufmerksam machte, hat damit Meerschweinchen in die Bauchhöhle eingespritzt und beobachtet, dass, nachdem man die Bauchdecken der eingegangnen Tiere zur Seite geschlagen hat, alles, was von der bakterienreichen Peritonealflüssigkeit benetzt worden war, in der Dunkelkammer in grünweissem Lichte strahlte. Die Bakterien bewahrten ihre Leuchtkraft bei einer Temperatur zwischen 10 und 40°, in den gewöhnlichen Nährboden trat die stärkste Phosphoreszenz bei 22° auf (D. 93. 1301).

Die künstliche Infizierung von Tieren mit Choleravibrionen liess von vornherein ein ungenügendes Ergebnis erwarten, denn niemals hat man ähnliche Erkrankungen bei Tieren beobachtet, obwohl sie reichlich Gelegenheit hatten, mit den Ausleerungen cholerakranker Menschen in Berührung zu kommen.

Um so auffallender klingt die Mitteilung von Ogata, er habe gelegentlich einer Epidemie in Japan einen Hund beobachtet, der mit ausgesprochnen Zeichen der Cholera und mit Cholerabazillen im Darm behaftet gewesen wäre, und dessen Harn sogar die Cholerarotreaktion gegeben hätte (H. 1. 548).

Ein Tier aber, das Meerschweinchen, lässt sich doch zum Versuch benützen, weil es wenigstens gelingt, an ihm die Erscheinungen einer Vergiftung zu erzeugen.

Auf dem Wege des Verdauungskanals gelang es Koch**), eine Erkrankung dieser Nager mit tödlichem Ausgange hervorzurufen, wenn das Tier vor der Einführung von 10 ccm Bouillonkultur in den Magen durch die Schlundsonde (S. 162) eine Lösung von 5% Natriumkarbonat zur Neutralisierung des stets sauern Magensafts, sowie gleich darauf Opiumtinktur (1 ccm auf 200 g Gewicht des Tieres) in die Bauchhöhle gespritzt erhielt. Erliegen die Tiere dieser Behandlung unter lähmungsartiger Schwäche und Wärmeabfall, so findet man im Dünndarm, der stark gerötet und schwappend mit einer wässrigen, flockigen, farblosen Flüssigkeit gefüllt ist, die Kommabazillen fast in Reinkultur.

Dass diese Tiere wirklich einer Vergiftung erliegen, hat R. Pfeiffer durch Versuche erwiesen, wonach die Einverleibung von Cholerabakterien in die Bauchhöhle tödlich wirkt, mag man lebende oder durch Chloroform oder Thymol abgetötete Kulturen nehmen; bei Thymolanwendung waren etwa ums dreifache höhere Gaben nötig. 1 Oese (= 1,5 mgr) einer 18 Stunden alten Agaroberflächenkultur tötet ein Meerschweinchen von 400 g Gewicht. Das Krankheitsbild zeigt, so schildert R. Pfeiffer (Z. 11. 398), beim Meerschweinchen sehr charakteristische Züge. Die ersten Vergiftungserscheinungen treten frühestens

---

*) Fischer, Z. 1. 421; 2. 54; C. 3. 105; Forster, C. 2. 337; Tilanus, J. 3. 344.

**) Konferenz zur Erörterung der Cholerafrage; zweites Jahr, 1885. B. 85. Nr. 37a. S. 7.

$1\frac{1}{2}$—2 Stunden nach der Injektion auf. Die Tiere werden auffällig ruhig und fühlen sich schlaff an, auch macht sich sehr frühzeitig eine gewisse Muskelschwäche bemerkbar. Jetzt beginnt auch die Körperwärme rapide zu sinken, die Abnahme der Rektaltemperatur beträgt öfters 2—3° im Laufe einer Stunde. Gleichzeitig steigt die Prostration des Tieres. Es liegt platt auf dem Bauch oder auf der Seite, unfähig, sich wieder aufzurichten. Die Hinterextremitäten sind wie gelähmt, von Zeit zu Zeit durchschauern fibrilläre Zuckungen die Muskulatur. Jetzt fühlt das Tier sich ganz kalt an und in der That kann seine Rektaltemperatur unter 30° gefunden werden. Der Tod erfolgt meistens 12—16 Stunden nach der Vergiftung, gelegentlich aber sieht man, wie Tiere mit einer Körpertemperatur unter 32° sich 24 Stunden und länger hinschleppen, um dann doch endlich zu Grunde zu gehen.

Wurde das Tier durch die toxische Dosis nicht getötet, so kann es sich auch bei sehr schweren Vergiftungserscheinungen wieder erholen. Die Temperatur, die vielleicht schon auf 34° gesunken war, beginnt langsam zu steigen, das Tier wird muntrer und 24 Stunden später ist es wieder gesund.

Ist die Dosis absichtlich sehr gering gewählt worden, so kann man besonders bei subkutaner Injektion statt der Temperaturerniedrigung eine mehr oder weniger ausgesprochne Temperaturerhöhung bis zu 40°,2 beobachten. Die Tiere sind dabei anscheinend gar nicht krank. Innerhalb weniger Stunden verschwindet das Fieber und jedes sonstige Krankheitsymptom. Das Thermometer ist also ein sehr feines Reagens, das beim Meerschweinchen wenigstens sehr genauen Aufschluss über die Intensität der Erkrankung gibt. Ein rasches Sinken der Körpertemperatur ist von übelster Bedeutung.

Der Sektionsbefund von Meerschweinchen, die durch intraperitoneale Injektion lebender Cholerakulturen getötet sind, bietet wenig bemerkenswertes. Das Bauchfell ist manchmal gerötet und enthält gewöhnlich geringe Mengen einer hellgelben serösen Flüssigkeit. Die Darmschlingen können hellrot erscheinen, oft aber zeigen sie die gewöhnliche blassgraue Farbe. Leber und Milz sind schlaff, die Lungen blutreich, das Herz mit Blut gefüllt. Die injizierten Choleravibrionen erweisen sich zum weitaus grössten Teil abgestorben, ein Zeichen, dass die beobachteten Erscheinungen von einem in den Bakterienleibern enthaltnen Gifte herrühren.

Leider kommen die dargelegten Wirkungen von Einspritzungen in die Bauchhöhle den Cholerabakterien nicht allein zu. Denn, wie Klein bewiesen und Sobernheim (H. 3. 997) bestätigt hat, kann man mit den lebenden oder abgetöteten Kulturen verschiedner andrer, pathogener und nicht pathogener Bakterien dieselben Erfolge erzielen.

Verfahren bei der Untersuchung auf Choleravibrionen.

Als wichtigste Hilfsmittel für die Diagnose treten von den früher gedachten Nährboden die Nährgelatine, der Nähragar und das Peptonwasser in den Vordergrund. Wer diese Nährmittel und womöglich die Einrichtungen zur Selbstbereitung vorrätig hat, braucht

ausser einem guten, zu bakteriologischen Arbeiten geeignetem Mikroskop noch die nötigen Platinnadeln, Doppelschälchen, feuchten Kammern (die im Notfall durch zwei übereinander gestülpte, am Boden mit feuchtem Fliesspapier ausgelegte Teller ersetzt werden können), Glasplatten und -Bänkchen, Trockensterilisierungschränkchen (allenfalls entbehrlich), einen auf Körperwärme eingestellten Brutschrank und für die kühlern Tage und die kalte Jahreszeit einen zweiten auf 22° erwärmten Brutschrank für die Gelatineplatten. Dieser Brutschrank bedarf eines eignen Wärmereglers nicht, da ein Nachtlicht den Zweck völlig versieht, wenn die Temperaturunterschiede zwischen Tag und Nacht nicht sehr grosse sind.

Die Choleradiagnose muss sicher und dabei so frühzeitig wie immer möglich gestellt werden!

Haben wir Ausleerungen oder Darminhalt zu untersuchen, so ist das Verfahren folgendes (Koch Z. 14. 319):

1. Ein herausgefischtes Schleimflöckchen wird auf einem oder mehrern Objektträgern ausgestrichen, trocknen lassen, dreimal durch die Flamme gezogen und mit verdünntem Karbolfuchsin mehrere Minuten lang gefärbt, das Präparat mit Wasser abgespült, getrocknet und mit der Oelimmersion bei offnem Kondensor untersucht.

In mehr als 50 % der Fälle lässt sich nach Koch die Choleradiagnose aus dem charakteristischen Aussehen des mikroskopischen Bildes stellen; denn die Kommabazillen liegen oft in eigentümlichen Haufen angeordnet beisammen, worin die Vibrionen zumeist der Länge nach gestellt parallel und hintereinander wie „ein Schwarm von Fischen“ ziehen. „Wenn in mikroskopischen Präparaten aus Dejektionen die eigentümliche Gruppierung der Cholerabakterien fehlen sollte, aber neben zahlreich verstreuten Bakterien, die das Aussehen von Cholerabakterien haben, nur Bacterium coli gefunden wird, dann kann man ebenfalls noch mit Sicherheit darauf rechnen, asiatische Cholera vor sich zu haben. Erst wenn das Bakteriengemisch ein kompliziertes wird, fängt die mikroskopische Diagnose an, unsicher zu werden.“ (Photogr. Taf. VI Nr. 35.)

Von sonstigen Bestandteilen sind es die Cylinderepithelzellen, worauf geachtet werden muss, da sie im Cholerastuhl regelmässig, im normalen nie vorhanden sind.

Selbst bei typischem mikroskopischem Bilde ist die Anlegung von Kulturen unbedingtes Erfordernis.

2. Ein andres Schleimflöckchen wird in bei 30—40° verflüssigter, schwach alkalischer Nährgelatine verteilt; dann werden die üblichen Verdünnungen angelegt und 3 Platten gegossen, die nach gehöriger Erstarrung (Eiskühler) in einer feuchten Kammer auf Bänkchen übereinander gelagert, dem auf 22° eingestellten Brutschrank übergeben werden*).

3. Ein drittes Schleimflöckchen wird in ein oder zwei Röhrchen

*) Zabolotny legt Eiweissplatten an, die dem auf 37° eingestellten Brutschrank übergeben werden (S. 397).

mit Peptonwasser eingebracht, die man in den auf Körperwärme temperierten Brutschrank bringt.

Damit ist der erste Teil der Untersuchung beendigt, der kaum mehr wie 30—45 Minuten in Anspruch nimmt.

4. Im Anschluss daran giesst man in mehrere Doppelschälchen je 7—8 ccm im siedenden Wasserbade verflüssigten Nähragar und stellt sie nach genügender Erstarrung mit dem Deckel nach unten unter eine Glasglocke in den Brutschrank, um für die spätern Aussaaten nicht zu nassen Agar zu haben.

5. Wer Uebriges thun will, nimmt von dem geimpften Peptonwasser, bevor es in den Brutschrank kommt, zwei Platinösen zu zwei hängenden Tropfen heraus, die nach guter Randdichtung des Deckglases mit Vaseline ebenfalls dem Brutschrank übergeben werden. Man erhält dadurch einen ungefähren Einblick in die im Peptonwasser fortschreitende Entwicklung, wenn man von Zeit zu Zeit mikroskopisch untersucht, wobei, wie immer, hauptsächlich der Rand des Tröpfchens besichtigt wird.

6. Sechs Stunden später nimmt man die Peptonröhrchen wieder vor, indem man sie vorsichtig anfasst, ohne zu rütteln. Sieht man unterm Mikroskop bereits Vibrionen, so wird ganz von der Oberfläche an der Glaswand ein Tröpfchen oder feinstes Häutchen mit einer kleinen Platinschlinge herausgefischt und über die Oberfläche eines der vorrätig gehaltnen Agarschälchen verstrichen. Röhrchen und Schälchen kommen mit der nötigen Aufschrift versehen in den Brutschrank zurück.

7. Zwölf Stunden nach der Aussaat wird dieses Verfahren in der gleichen Weise wiederholt.

8. Um dieselbe Zeit gelingt es oft schon, auf dem vor sechs Stunden besäten Agarschälchen die durchscheinenden, homogenen, feinen Ansiedlungen der Choleravibrionen zu finden. Dann wird unter Führung des Mikroskops mit einer feinen Platinöse in ein neues Röhrchen mit Peptonwasser abgeimpft. Sicherheitshalber macht man von der ersten Agarplatte einen Abstrich auf eine zweite. Die drei Proben werden in den Brutschrank gestellt.

9. Sechs Stunden später wird das von der Agarplatte abgeimpfte Peptonröhrchen auf das Vorhandensein von Vibrionen mikroskopisch geprüft und durch Zusatz einiger Tropfen reinster Schwefelsäure die Indolreaktion angestellt.

10. Fünfzehn bis zwanzig Stunden nach der Aussaat sind bereits die bei 22 ° gehaltnen Gelatineplatten zu verwerten, die im einschlägigen Falle die S. 396 beschriebnen jungen Cholerakolonien bei engster Blende unterm Kondensor und mit etwa 100facher Vergrösserung ohne Schwierigkeit erkennen lassen, wenn man auf das Bild genügend eingeübt ist.

11. Um diese Zeit oder etwas später ist auch die Agarkultur so weit entwickelt, dass man 1 Oese von ihr zum Tierversuch verwenden kann, der jedoch ein unbedingtes Erfordernis nicht ist. 1,5 mgr der Kultur (= 1 Oese) werden in 1 ccm Nährbouillon oder sterilen Wassers aufgeschwemmt, einem Meerschweinchen von 300—500 g Gewicht in die Bauchhöhle gespritzt. Hat man genug Tiere zur Verfügung, so nimmt man 3 Meerschweinchen. 3 mgr Cholerakultur werden in 2 ccm steriler Flüssigkeit gut verrieben:

Das erste Tier bekommt 1 ccm in die Bauchhöhle.
„ zweite „ „ ½ „ „ „ „
„ dritte „ „ ¼ „ „ „ „

Der Darm darf dabei nicht angestochen werden, weil die vermehrte Peristaltik die Aufschwemmung heraustreibt, so dass das Tier gesund bleibt. Von den dreien können zwei den Eingriff überstehen. Die so behandelten Meerschweinchen werden stündlich gemessen. Die Körperwärme geht von 38 auf 29 und 27 ⁰ herab; dann stirbt das Tier.

Waren nicht zu wenig Cholerabakterien im Ausgangsmaterial vorhanden und ging alles glatt, so kann schon nach 14—15 Stunden die Diagnose zweifellos sein, meistens wird man am nächsten Tag das Urteil abgeben können.

Damit bei derartigen Untersuchungen nichts vergessen und unterlassen wird, gebe ich das nachfolgende Schema:

Bezeichnung des zur Untersuchung gesandten oder übergebnen Objekts mit Herkunftort und Datum.
Name des Kranken.
Name des Absenders und Ort der Absendung.
Eingetroffen am . . . . . . um wie viel Uhr.
Art der Verpackung und des Gefässes.
Verarbeitung am . . . . . . um . . Uhr . . Minuten.
Ungefähre Menge.
Farbe, Aussehen, Dichtigkeit.
Geruch.
Reaktion.
Berücksichtigung der Möglichkeit irrtümlich zugesetzter Desinfektionsmittel.
Mikroskopische Untersuchung:
A. im ungefärbten Präparate.
a) zellige Bestandteile (Cylinderepithelien u. s. w.).
b) Bakterien (beweglich; unbeweglich; Form; Menge).
B. im gefärbten Präparate.
a) zellige Bestandteile.
b) Bakterien (Form, Menge, Gruppierung).
Aussaat auf Gelatineplatten.
Aussaat in Peptonwasser.
Ergebnis der Untersuchung:
. . Uhr . . Minuten Peptonröhrchen untersucht.
. . „ . . „ Ausstrich auf Agarplatte.
. . „ . . „ Untersuchung der Agarplatte und Abimpfung auf Peptonröhrchen etc.
. . „ . . „ Indolreaktion und ihr Ausfall.
. . „ . . „ Untersuchung der Gelatineplatten.
. . „ . . „ Tierversuch.
Befundbericht mit Schlussergebnis; Aeusserung, ob Cholerabakterien gefunden wurden oder nicht.
(Redewendungen, wie Cholera liegt nicht vor u. dgl. sind zu vermeiden.)

In diesem Schema ist eine an die Untersuchungstelle gesandte Probe von Erbrochnem oder von Darminhalt gedacht. Für die Uebersendung von auswärts bestehen amtliche Vorschriften. Trotzdem wird der die Untersuchung beeinträchtigende oder vereitelnde Zusatz von Desinfektionsmitteln manchmal gemacht, oder man bekommt Glasgefässe mit eingeriebnen Glasstopfen, die so schlecht schliessen, dass sie besser durch Korkstopfen ersetzt gewesen wären u. ä. Sofort nach dem Auspacken ist das Glas auf eine bereitgelegte Glasplatte zu stellen, die später samt dem entleerten Gefäss ausgekocht wird. Der Inhalt wird in eine Schale gegossen um die Durchmusterung zu erleichtern (später samt Inhalt im Dampfapparat zu desinfizieren!). Die Hände, die das Glas berührten, sind in einer bereit gestellten Schale mit Sublimatlösung und Watte gründlich abzureiben, zu waschen und zu desinfizieren, das Verpackungsmaterial, vor allem die Streu augenblicklich zu verbrennen, ebenso wertlosere Kistchen, grössere sind, mit heisser Sodalösung und mit Karbollösung gründlich zu scheuern oder den Dämpfen von Formalin, das in einem Schälchen hineingestellt wird, in bedecktem Zustande wenigstens 1 Tag lang auszusetzen.

Die eigentlichen Cholerastühle sind farblos, nicht, wie man sie vielfach bezeichnet, reiswasserähnlich, nicht wässrig, eher etwas dicklich, wie Mehlsuppe, mehr weniger kompakt, flockig, durch beigemengtes Blut rötlich. Aber auch gallig gefärbte, mit kleinen Kotballen vermengte Fäces, ja selbst geformte Entleerungen können Cholerabazillen enthalten. Solche Entleerungen rühren oft von scheinbar gesunden Menschen her, die gegen das Gift der Cholerabakterien wenig empfindlich sind und durch die selbst reichliche Ansiedlung der Choleravibrionen im Darm nicht merklich leiden; sie sind besonders gefährlich wegen der Möglichkeit einer Weiterverbreitung der Seuche.

Ausser Erbrochnem und Fäces kommt beim Lebenden kein weiteres Organ oder dessen Absonderung für die Untersuchung in Betracht.

Die Auffindung der Choleravibrionen im Kot ist ein ebenso sichres Zeichen für das Bestehen einer echten Cholera, wie der Nachweis der Tuberkelbazillen im Auswurf das Vorhandensein einer Tuberkulose der Atmungsorgane anzeigt. Bei der Cholera ist dazu die Wahrscheinlichkeit, die Krankheitserreger in der krankhaften Absonderung zu finden, eine viel grössere, wie bei der Lungentuberkulose, weil die Stellen, wo sie sitzen, mit der Aussenwelt immer und in direkter Verbindung stehen.

Auch bei der Leiche kommt lediglich die Untersuchung des Darmes und seines Inhalts in Betracht.

Man schneidet von dem leicht rosig (hortensiarot) gefärbten Darm nach doppelter Unterbindung der betreffenden Stellen 3 Darmschlingen heraus und nimmt von dem Inhalt einer jeden, am besten von der Wandung, kleine Proben zur mikroskopischen Untersuchung und zur Aussaat auf Platten und in Peptonwasser.

Im übrigen Körper werden die Cholerabakterien nicht gefunden, ein Beweis, dass lediglich ein Gift wirkt, das bald stärker, bald schwächer in ihnen enthalten ist und von ihnen abgesondert wird. Eine Anzahl von Menschen ist von Natur aus nicht empfindlich dagegen, eine Eigen-

schaft, die alle erlangen, die von der Krankheit in stärkerem oder schwächerem Masse befallen waren und wieder genesen sind. Die schweren, rasch zum Tode führenden Allgemeinerscheinungen sind lediglich die Wirkungen des Gifts auf empfängliche Menschen. Für manche reicht schon das durch verhältnismässig wenig Choleravibrionen im Darm erzeugte und von dort aufgenommene Gift hin, um die schwersten Zufälle mit tödlichem Ausgange hervorzurufen. Die spätern Erscheinungen dagegen, wie sie z. B. als Choleratyphoid bekannt sind, können der Giftwirkung der Cholerabakterien nicht mehr zur Last gelegt werden. Sie haben aber auch nichts mit dem Typhusbacillus zu thun, sondern sind die Folgen einer nachträglichen Einwanderung andrer Kleinwesen von der wunden Darmoberfläche ins Innere des Körpers.

Vielleicht kommt es dabei ausnahmsweise vor, dass noch vorhandne lebende Cholerakeime mit in den Körper hineingelangen. Rekowski berichtet über Befunde von Cholerabakterien in verschiednen Organen, aber immer neben andern, meist Kolibakterien, und gibt folgende Tabelle (D. Med. Ztg. r. 93. 476):

Von durchschnittlich 14 Untersuchungen jedes Organs enthielten:

	Bakterien im allgemeinen	Choleravibrionen
Gehirn	5	3
Flüssigkeit der Wirbelsäule	7	4
Herz	11	6
Herzblut	7	4
Leber	13	7
Galle	14	14
Milz	9	3
Niere	13	7
Biceps oder Pectoralis	5	1

Der Cholera ähnliche Erkrankungen.

Zu Cholerazeiten, wo die vermehrte Sorge eine grössere Anzahl von Darmerkrankungen mit erhöhter Aufmerksamkeit verfolgen lässt, kommen in der Regel einige oder viele Brechdurchfälle zur Kenntnis und zur Untersuchung, die mit asiatischer Cholera nichts zu thun haben. Der vorsichtige Beurteiler gibt dann sein Gutachten dahin ab, dass Cholerabakterien nicht gefunden worden seien. Das Suchen nach einem als Krankheitserreger anzusehenden, allen derartigen Fällen gemeinsamen Kleinwesen, das bei andern Krankheiten oder im normalen Darminhalt nicht vorkommt, hat dabei meist zu keinem Ergebnis geführt. Mitunter aber begegnet man einem Falle, bei dem statt des sonst häufig nachgewiesnen Bacterium coli commune ein andres Bakterium von wichtigerer Bedeutung vorgefunden wird.

So hat M. Beck in einem binnen 3 Tagen tödlich endigenden Falle von scheinbar schwerster Cholera asiatica in dem sauer reagierenden Darminhalt, im Blut und in den Organen dicke, lange, die Bouillon anfangs leicht trübende Streptokokken fast oder völlig in Reinkultur nachweisen können, die, aus künstlichen Nährboden gewonnen, Mäuse in geringen Mengen binnen 24 Stunden töteten (D. 92. 902).

Die **Cholera infantum** ist bis jetzt ebenso wenig wie die **Cholera nostras** ihrer Ursache nach aufgeklärt.

Der Ausdruck Cholera infantum ist nicht glücklich gewählt, weil es scheinen könnte, als käme bei Kindern eine eigenartige, aber keine asiatische Cholera vor, während doch selbst Säuglinge von ihr befallen werden können.

Baginsky und Stadthagen (B. 90. 294) konnten zwar bei der Kindercholera keine ihr eigentümlichen Bakterien finden, wiesen aber die Bildung von Ammoniak, ferner einer mässig giftigen Base und einen giftigen, den Peptonen zugehörigen Körper in den Kulturen eines aus den Fäces reingezüchteten, weissen, verflüssigenden Bakteriums nach, das dem von Finkler und Prior gefundnen ähnlich oder gleich ist. Diese Autoren haben bekanntlich einen dem Kochschen Kommabacillus nicht unähnlichen Vibrio, der Gelatine rasch und schlauchartig verflüssigt, aus mehrere Tage stehen gelassnen (!) Darmentleerungen bei Cholera nostras kultiviert. Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen ihm und der Krankheit ist nicht anzunehmen. Man fand ihn nur selten bei Cholera nostras, aber gelegentlich einmal im Darmkanal eines vorher gesunden Selbstmörders (Kuisl J. 1. 172). Von sonstigen Bakterienbefunden bei der Cholera nostras steht selbstverständlich das Bacterium coli und demnächst das Bacterium lactis aërogenes vorne an, was zunächst weiter nichts beweist, als dass Bakterien, die sich unter gewöhnlichen Verhältnissen im Darme finden, gelegentlich der Erkrankung zu einer reichlichern Entwicklung gelangt sind.

Wichtig aber ist die von Epstein betonte Thatsache, dass die septische Ansteckung der Neugebornen auch in Gestalt eines akuten oder chronischen Magenkatarrhs sich äussern kann, wofür Fischl eine Anzahl beweisender Fälle von gastrointestinaler Sepsis erbrachte. Es fanden sich bei klinisch und anatomisch als Brechdurchfälle charakterisierten Erkrankungen, wie bei Septikämien, Trauben- und Kettenkokken im Herzblut und in den Organen, am reichlichsten in den Lungen, demnächst in der nicht immer geschwellten Milz und in den Nieren, seltner in der Leber (65. Naturforscher-Vers. Mr. 93. 738).

Die Ruhr

ist in ihrer Ursache ebenfalls noch nicht aufgeklärt. Es wurden zwar von einer Reihe von Untersuchern Amöben im Darmkanal der Kranken und in den als Begleiterscheinungen beobachteten Leberabscessen (mit oder ohne Veränderungen in den Lungen oder Durchbrechung des Zwerchfells und der Lungen) gefunden. Sie sollen bei Gesunden nicht vorkommen. Das ist aber irrig, denn man kann im Darminhalt vieler Menschen Amöben antreffen, vielleicht noch häufiger in den wärmern Gegenden, wo auch bei der Dysenterie der Befund von Protozoën häufig ist. Schuberg, dem wir eine kritische Uebersicht über die parasitischen Amöben des menschlichen Darmes verdanken, auf die ich hier verweise (C. 13. 598), hat sie in Würzburg bei der Untersuchung von 20 Stühlen, die auf Einwirkung von Karlsbader Salz erfolgt waren, in etwa der Hälfte der Fälle, und zwar zum Teil in ziemlicher Menge gefunden. Wurde Ricinusöl als Abführmittel genommen, so kamen sie nicht zum Vorschein. Durch die Zersetzungs-

vorgänge im entleerten Darminhalt und bei saurer Reaktion gingen sie schon in wenigen Stunden zu Grunde. Fester Inhalt liess die Amöben vermissen. Tierversuchen, die Kartulis mit den von ihm gesehnen und sogar — aber durchaus nicht einwandfrei — gezüchteten Amöben einige Male anstellte, fehlt die nötige Beweiskraft. Andre Forscher, wie Maggiora (J. 7. 554), Kruse und Pasquale (D. 93. 378), schreiben die Entstehung der Ruhr oder des dysenterischen Leberabscesses teils Amöben, teils Bakterien oder einer vereinigten Wirkung beider Arten von Kleinwesen zu.

Für die Untersuchung auf Amöben steht uns vorläufig nur das Mikroskop zur Verfügung, da Reinzüchtungen fehlschlugen.

Ueber Amöben-Enteritis, Infusorien-Diarrhöe s. a. Quincke Mr. 93. 734; Roos Mr. 93. 589.

Tuberkulose des Darmes

lässt sich aus der Untersuchung der Entleerungen auf Tuberkelbazillen, die ebenso, wie beim Auswurfe vorzunehmen ist, nicht diagnostizieren, weil die etwa gefundnen Tuberkelbazillen von verschlucktem Lungenauswurf herrühren können, ohne dass eine örtliche Erkrankung der Darmwand vorhanden zu sein braucht (Bodo J. 7. 823).

Darmmilzbrand

scheint beim Menschen primär nur durch Hineingelangung von Milzbrandsporen, nicht von sporenfreien Bazillen in den Darm zu entstehen (z. B. bei Pinselmachern, Rosshaarspinnern u. s. w.), sekundär kommt er bei Infektion von der Haut aus zur Beobachtung. Bei etwaigem Verdacht wäre neben der Anlegung von Plattenkulturen auf Nährgelatine und -Agar der Tierversuch (Meerschweinchen, Mäuse) heranzuziehen und von den aus den Platten gewonnenen verdächtigen Kolonien nach Sicherung der Reinkultur jedenfalls die Impfung auf weitere Tiere vorzunehmen. Bei der Leiche sind die einzelnen Organe und das Blut in der gleichen Weise zu durchforschen und ausserdem Teile in Alkohol zur Fertigung von Schnitten einzulegen, die nach einer der gewöhnlichen und der Gramschen Methode gefärbt werden. Milzbrandbazillen im menschlichen Körper zeigen oft ein vermindertes Farbstoffaufnahmevermögen. (S. a. S. 481.)

Blut.

Die Untersuchung des Bluts mit dem Mikroskop und durch die Kultur ist bei gewissen ansteckenden Krankheiten oft allein imstande, zur richtigen Diagnose zu führen.

Soll erforscht werden, ob und welche Kleinwesen überhaupt darin vorhanden sind, so ist es erforderlich, Mikroskop und Plattenkultur, allenfalls auch noch den Tierversuch heranzuziehen. Wird nach vor-

her bestimmten Mikroorganismen gefahndet, so richtet sich das Vorgehen nach ihren besondern Lebenseigentümlichkeiten. Gerade unter den im Blute vorkommenden Kleinwesen gibt es welche, die nur mikroskopisch nachweisbar, aber auf unsern künstlichen Nährboden nicht züchtbar sind; bei Rückfall- und Wechselfieber z. B. wird man deshalb von vorne herein bloss die mikroskopische Untersuchung in Betracht ziehen.

In jedem Falle ist es unumgänglich erforderlich, das Blut rein und keimfrei zur Prüfung zu gewinnen. Es sind dazu folgende Gegenstände beim Krankenbette bereit zu halten:

Waschbecken mit warmem Wasser, Bürste und Seife.

Eine Flasche mit 1 %iger Sublimatlösung, dazu ein Schälchen mit Wattebauschen.

Fläschchen mit Alkohol und Aether, deren Rand von Staub durch Abreiben mit Sublimatlösung gründlich gesäubert ist.

Eine Spirituslampe und Streichhölzer.

2 Platinösen.

Einige Röhrchen mit (verflüssigter) Gelatine.

Ein oder einige Doppelschälchen mit Nähragar (mit oder ohne Glyzerinzusatz).

Objektträger und Deckgläser.

Näh- und Stecknadeln; für die Nähnadeln ein Griff zur Befestigung.

Glasstift, Bleifeder, gummierte Aufschriftzettel.

Vor der Entnahme waschen wir die betreffende Stelle (Fingerbeere, Ohrläppchen u. dgl.) mit warmem Seifenwasser und Bürste gründlich ab, giessen etwas Alkohol darüber, reiben die Haut mit einem in Sublimatlösung getauchten Wattebauschen und entfernen die Lösung durch Ueberschüttung von Alkohol, endlich von Aether. Die Haut wird sofort trocken. Dann folgt die Entnahme.

Für gewöhnlich genügen eins oder wenige Blutströpfchen. Wir umschnüren den Finger in der Mitte mit einem Tuch, und stechen mit einer ausgeglühten und wieder erkalteten Nadel in die Beere. Der erste austretende Blutstropfen kann weggeschleudert werden; die Platinöse entnimmt dann vom nachfolgenden und wird das erste Mal durch Abtupfen an der Innenwand eines Gelatineröhrchens, das folgende Mal (sie wurde dazwischen geglüht), durch Ausstreichen auf der Oberfläche des nach unten gerichteten Agarbeetes ihres Inhalts entledigt; die übrigen Entnahmen erst dienen zur Anfertigung von Ausstrichen auf Objektträgern zur mikroskopischen Durchmusterung. Bei jeder Füllung der Platinöse ist eine Berührung der Epidermis sorgsamst zu vermeiden.

Die Gelatineröhrchen werden demnächst ausgerollt oder im nahegelegnen Laboratorium zur Platte ausgegossen.

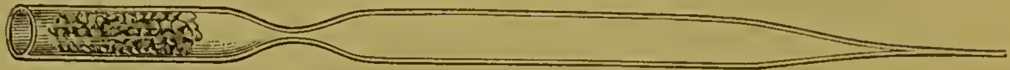
Wer die Tiefe des Einstiches bemessen und die Nadel den Augen des Kranken entzogen wissen will, kann sich der von Francke (D. 89. 27) empfohlnen lanzettförmigen, in einem Metallcylinder verborgnen, durch Federdruck vorschnellbaren Nadel bedienen. Aber ihre einwandfreie Sterilisierung ist misslich; die Nadel leidet dabei leicht Schaden.

Sollen grössere Mengen Blutes der Untersuchung unterworfen werden, so entnimmt man sie einer Vene des Handrückens

oder der Medianvene des Vorderarms oder einem Aste der Vena cephalica, bei fetten Personen wohl auch dem Hauptaste der Vene selbst. Da der Aderlass eine einwandfreie sterile Entnahme fast nicht gestattet, so hat Scheurlen ein spitzes Glasröhrchen genommen, das durch die desinfizierte Haut direkt in die Blutader eingestochen wird (Fig. 126).

Eine Glasröhre von 7 mm Durchmesser mit nicht zu dünnen Wandungen wird auf der einen Seite spitz ausgezogen und hier zugeschmolzen; unterhalb des andern Endes wird eine Verengerung angebracht und darüber ein Wattepfropf eingesetzt. Die Länge eines

Fig. 126.



solchen Röhrchens beträgt 15—20 cm, der Inhalt etwa 1 ccm. Mehrere solcher Pipetten kommen mit der Spitze nach unten in eine Blechbüchse zur Sterilisierung mit trockner Hitze. Kurz vor der Blutentnahme holt man ein Röhrchen heraus, bricht das zugeschmolzne Ende mit ausgeglühter Pinzette ab und sticht es dann unter leicht bohrender Bewegung nach gründlicher Reinigung und Desinfizierung der Haut in eine der vorhin bezeichneten, oberflächlich gelegnen Venen. Es wird dabei möglichst parallel der Körperoberfläche, dem venösen Blutlauf entgegengesetzt, gehalten. Namentlich wenn der Arm herzwärts zusammengedrückt wird, füllt sich das Röhrchen augenblicklich mit Blut. Es wird dann herausgezogen und seine Spitze, allenfalls auch die verengte Stelle abgeschmolzen. Besser noch ist es, vor der Gerinnung seinen Inhalt in ein mitgebrachtes sterilisiertes Doppelschälchen zu entleeren und daraus später im Laboratorium die Aussaat zu machen (C. 8. 257).

Für noch grössere Mengen Blutes muss das Glasgefäss bauchig erweitert sein. Nuttall hat dazu einen birnförmigen Kolben mit stumpfwinklig gebogner Spitze angegeben (Fig. 127). Wenn auch ursprünglich zur Gewinnung von Blutserum verschiedner Tiere bestimmt, kann es doch einmal auch zum vorliegenden Zweck Dienste thun. Die Grösse des Kölbchens kann beliebig von 10—100 und mehr Kubikzentimeter Rauminhalt gewählt werden. Das obere weitere, flaschenförmige Ende ist mit einem Wattepfropfen verschlossen, vom entgegengesetzten Punkte geht die zu einer feinen Spitze ausgezogne Glasröhre stumpfwinklig ab. Gebraucht wird es wie die vorhin beschriebene Pipette.

Fig. 127.



Beim Tier kann das Blut auch aus der Arterie entnommen werden; sie wird mit zwei Ligaturen umgeben, wovon die periphere abgebunden, die zentrale nur lose um das freigelegte Gefäss gelegt wird. Erst wenn die Spitze des Röhrchens in die Schlagader geschoben ist, wird auch die zweite Schlinge über ihr zugezogen. Zentralwärts von der zweiten Umschnürung wird noch eine Klemme angebracht, die nach der Festbindung des Glasröhrchens weggenommen, nach der Füllung des Kölbchens wieder angelegt wird.

Endlich gelingt es auch, mit Schröpfschnepper und Schröpfköpfen Blut zur Untersuchung zu gewinnen. Schröpfköpfe können leicht in einer Blechbüchse bei 160 ° ½ Stunde lang sterilisiert werden. Schwieriger gelingt eine einwandfreie Sterilisierung des Schneppers, wenn man dieses ziemlich teure Instrument nicht verderben will. Die äussere Messinghülse muss in Sodalösung ausgekocht oder mit Karbollösung gründlich abgerieben werden. Die herausgenommenen Messer werden für kurze Zeit in kochende Sodalösung gehalten und mit Alkohol und Aether getrocknet. Absolut sicher gelingt die Sterilisierung nicht immer, ebensowenig wie die der Haut mit ihren feinen Wollhärchen. Wenn man aber sogleich Platten anlegt, so hindert ein oder der andre zufällig hineingelangte Keim nicht wesentlich. Die Agarplatten werden hier durch Mischung des Blutes mit dem bei Siedehitze verflüssigten, auf 40 ° abgekühlten Nähr- (Glyzerin-) Agar vermischt. Ausser Doppelschalen sind die Petruschkyschen platten Fläschchen (C. 8. 609) zu empfehlen, weil ihr Inhalt lange vor äussrer Verunreinigung bewahrt werden kann.

Von jeder Blutprobe sollen, nachdem das Kulturmaterial gesichert ist, mikroskopische Präparate angelegt werden.

Wenn irgend wo, so ist hier besonders darauf zu achten, dass der Ausstrich möglichst dünn gerät. Die Blutkörperchen müssen nebeneinander zu liegen kommen, so dass sich jedes einzelne von der Fläche zeigt. Dazu legt man entweder ein zweites Deckgläschen dachziegelartig über das erste und zieht, wenn sich der Bluttropfen dazwischen ausgebreitet hat, beide Gläschen rasch auseinander, oder der Rand eines Deckgläschens wird der Länge nach über den Bluttropfen hinweggeführt, wodurch er einen schmalen Blutsaum erhält; diesen zieht man, indem man das Deckgläschen im Winkel geneigt hält, über zwei oder drei frische Deckgläschen oder Objektträger (Mannaberg).

Die Färbung der getrockneten und durch die Flamme gezognen Präparate gelingt in der bekannten Weise. Eine die Bakterienbeobachtung störende Färbung der Blutkörperchen und des Plasma lässt sich durch eine vorangehende Abspülung mit 1—5 %iger Essigsäure vermeiden, die das Hämoglobin aus den Blutkörperchen zieht und das Plasma grossenteils auswäscht. Dann wird getrocknet und gefärbt. Sind die Präparate alt, so gelingt es nicht mehr, das fest angetrocknete Plasma mit Essigsäure zu entfernen; hier hilft Behandlung mit 2 bis 3%iger wässriger Pepsinlösung, die das Plasma in kurzer Zeit peptonisiert (Günther).

Zur Beobachtung etwaiger Parasiten im lebenden Zustande legt man mit ein wenig Blut einen dünnen hängenden Tropfen in der bekannten Weise an. Das Präparat wird zweckmässigerweise unter ein im Wärmekasten befindliches Mikroskop gelegt.

Plehn konnte die Einzelheiten von Malariaparasiten am besten beobachten, wenn das Bluttröpfchen in einer Schichte flüssigen Paraffins zwischen Objektträger und Deckglas verteilt war. Um dem aus der angestochnen Fingerbeere quellenden Blute keine Gelegenheit zu geben, an einem Fremdkörper zu haften, war die Haut zuvor ebenfalls mit flüssigem Paraffin überzogen worden.

Septikämische und pyämische Erkrankungen.

Septikämie und Pyämie sind der Ausdruck des Uebergangs von Bakterien in den Kreislauf und ihrer Verschleppung nach den verschiedensten Organen. Sowohl die Bakterien selbst, als auch die von ihnen gebildeten Gifte bedingen die örtlichen und allgemeinen Krankheitserscheinungen. Die Unterscheidung zwischen Septikämie und Pyämie beruht auf klinischen und pathologisch-anatomischen Merkmalen. Gewöhnlich werden die an äussere Wunden und Verletzungen — einschliesslich der innern Körperoberfläche des Darms, der Gebärmutter u. s. w. — sich anschliessenden Allgemeininfektionen, die mit Bildung eitriger Herde in den verschiedensten Organen einhergehen, als Pyämie bezeichnet; fehlen die eitrigen Metastasen, so spricht man von Septikämie. Der Eingangsort der Bakterien in den Körper lässt sich oft nicht mehr feststellen, selbst die Leichenöffnung kann dafür keine Anhaltepunkte liefern: solche Fälle nennen wir mit v. Leube kryptogenetische Septikämien. Gerade diese Erkrankungen, die so häufig differentialdiagnostische Schwierigkeiten bieten, können durch die bakteriologische Untersuchung geklärt werden.

Denn nachdem wir durch Garré, v. Eiselsberg u. a. wissen, dass beim Vorhandensein örtlicher Eiterungsvorgänge der Weichteile, wie der Knochen die Eitererreger im kreisenden Blute, ja selbst im Schweiss sich durch die Züchtung nachweisen lassen, dürfen wir mit Recht darauf schliessen, dass auch bei verborgnen Eiterherden oder Einwanderungsstellen der Kleinwesen dieser Nachweis gelingen muss. In der That hat sich das auch bereits durch die praktische Erfahrung bestätigt, nur lässt sich auch hier, wie so oft bei negativem Ergebnis, eine Erkrankung nicht ausschliessen, da die Bakterien nur in sehr geringer Zahl vorhanden und die Untersuchungen in eine Zeit gefallen sein können, wo der Hauptschub schon vorüber war.

Eine Unterscheidung zwischen Septikämie und Pyämie ist durch die bakteriologische Blutuntersuchung nicht möglich. Es wurde zwar einmal die Ansicht vertreten, dass Septikämien nur durch Streptokokken, Pyämien durch Staphylokokken oder gleichzeitig durch Trauben- und Kettenkokken verursacht seien, jetzt aber weiss man, dass beide durch die verschiedenartigsten Krankheitserreger bedingt sein können. Die langen Kettenkokken und die gelben, zitronenfarbnen und weissen Traubenkokken stehen an Häufigkeit obenan. Von den Staphylokokken herrscht bald die eine, bald die andre Abart vor. Ferner traf man im Blute und in den Organen den Bacillus enteritidis (Lubarsch und Tsutsui, V. 123. 70), selbst saprogene, den Darmbewohnern ähnliche und verschiedne andre Arten von Bakterien*) an.

Ich erwähne hier nur noch die gasbildenden Kapselbazillen, die Ernst (V. 133. 308) aus dem Blute und aus den Organen nach

---

*) Siehe Babes, Bakteriologische Untersuchungen über septische Prozesse des Kindesalters, Leipzig bei Veit & Co. 1889; Cr. 5. 797. Ferner Cr. 7. 243 und 376.

Foà und Bonome, Z. 5. 403.

jauchiger Endometritis und nach Perforationsperitonitis züchtete. Ihre Gasbildung war so hochgradig, dass sie die auffallende Erscheinung der Schaumleber hervorriefen. Für Tiere waren sie nicht sehr pathogen. Sie sind vielleicht gleich mit den von Welch und Nutall im Leichenblut eines Schwindsüchtigen nachgewiesnen Kapselbazillen (S. 415) und ähnlich den von E. Fränkel bei Gasphlegmone (S. 364) und von v. Dungern bei hämorrhagischer Sepsis des Neugebornen gefundnen Bazillen (C. 14. 546).

Negative Ergebnisse verzeichnete Neumann (C. 12. 676) in fünf Fällen von Septikämie oder Pyämie trotz Entnahme genügender Mengen Bluts aus der Armvene.

Die Blutuntersuchung ist in jedem zweifelhaften Falle Erfordernis, das um so leichter zu erfüllen ist, als sie sich sehr einfach gestaltet. Es genügt, einige Tröpfchen bis zu 1 ccm (Canon, D. 43. 1038) des Bluts aus der Fingerbeere auf der Oberfläche von Nähr-(Glyzerin-) Agar in einem oder mehreren Schälchen auszustreichen (S. 409). Man kann dadurch sehr wichtige Aufschlüsse erhalten und in den Stand gesetzt sein, eine Septikämie zu diagnostizieren, wo die sorgsamste klinische Untersuchung über die Natur der Krankheit im Ungewissen gelassen hat.

Fälle z. B., die als Unterleibstyphus imponierten, können in ein ganz andres Licht gesetzt werden, wenn im Blute Eitererreger gefunden werden. Es deutet das zum mindesten auf eine begleitende nachträgliche Infektion oder direkt auf Septikämie.

Einen interessanten Beitrag zu dieser Frage lieferte Bruschettini, der wiederholt während einer Typhusepidemie durch Punktion gewonnenen Milzsaft (s. S. 390) bakteriologisch untersuchte. Unter 15 Fällen fanden sich bloss sechsmal die Typhusbazillen in Reinkultur, zweimal vergesellschaftet mit Streptokokken. In 7 Fällen aber, die sich klinisch durchaus nicht vom Typhus unterschieden, stellte sich der Staphylococcus albus heraus, wodurch die Diagnose und mit ihr das ganze ärztliche Vorgehen wesentlich beeinflusst wurde. In einem weitern Falle ergab die Aussaat des Achselvenenblutes den weissen Traubencoccus (Cr. 11. 804).

Schwieriger kann die Entscheidung werden, wenn im Blute der lanzettförmige Kapselcoccus zum Vorschein kommt, namentlich wenn gleichzeitig ein Verdacht auf Pneumonie nicht ausgeschlossen ist; denn dieses Kleinwesen ist ebenfalls imstande, Septikämie mit vorhandner oder fehlender örtlicher Ansiedlung in den Lungen hervorzurufen. Bozzolo war in einem diagnostisch dunkeln Falle allein durch die bei der Durchforschung des Bluts nachgewiesnen lanzettförmigen Diplokokken in der Lage, die klinischen Erscheinungen im Sinne einer Meningitis zu deuten, die sich bei der spätern Leichenöffnung als thatsächlich vorhanden herausstellte (Cr. 5. 774).

Gleichzeitige fieberhafte Herz- und Gelenkerkrankungen können sowohl bei akutem Gelenkrheumatismus, wie bei Septikämie vorhanden sein. Würden in der Blutaussaat Streptokokken, Staphylokokken u. dgl. angehen, so wäre das für mich ein Zeichen für Septi-

kämie, da bis jetzt noch keine einwandfreien und sichern Befunde dieser Eitererreger bei der Polyarthritis rheumatica im Blute vorliegen (vgl. S. 328).

Die bei Septikämie und Pyämie beobachteten Blutaustritte in der Haut (und in den Nieren) können zur Verwechslung mit akuten Exanthemen führen. Auch hier würde ein Nachweis in dem soeben gedachten Sinne auf die richtige Spur leiten können.

Andrerseits aber ist wohl zu bedenken, dass bei Scharlach die langen Streptokokken zu den häufigsten bakteriologischen Vorkommnissen gehören. Sie spielen zwar die Rolle der nachträglichen Einwandrer und die durch sie hervorgerufene Erkrankung ist eine septikämische; man muss sich aber wohl hüten, dabei die Grundkrankheit zu übersehen.

Auch bei Masern kann die gleiche sekundäre Infektion hinzukommen; weder hier noch beim Scharlach sind die eigentlichen Erreger bekannt. Dem von Canon und Pielicke veröffentlichten (nur mikroskopischen) Befunde im Blute von 14 Masernkranken (B. 92. 377) kommt ebensowenig eine ätiologische Bedeutung oder eine allgemeine Gültigkeit zu, wie ihrem angeblichen Nachweis von Influenzabazillen im Blute, der sich durch die einwandfreien Untersuchungen Pfeiffers nicht bestätigte. Für allenfallsige Nachprüfungen gebe ich die von C. und P. geübte Färbemethode:

Konzentrierte wässrige Methylenblaulösung	40,0
1/4% Eosinlösung in 70% Alkohol	20,0
Destilliertes Wasser	40,0

Die Präparate wurden 5—10 Minuten in absolutem Alkohol fixiert und dann 6—20 Stunden im Brutschrank bei 37° gefärbt. Es genügten 2—3 Stunden, wenn in der Farblösung das Wasser weggelassen und dafür die doppelte Menge der konzentrierten wässrigen Methylenblaulösung genommen wurde.

Bei Purpura haemorrhagica (Morbus maculosus Werlhofii) lassen sich den Untersuchungen von Kolb zufolge während des Lebens keine Bakterien im Blute auffinden, wohl aber im Herz- und Pfortaderblut, in Stückchen von der Haut und von den innern Organen der Leiche.

Kolb, der die Ursache dieser Kranhheit klarlegte, schilderte die Erreger als kurze, ovale, an den Enden abgerundete, meist zu zweien beisammenliegende Stäbchen, die bei Behandlung nach Gram die Färbung verlieren, auf den gebräuchlichen Nährboden leicht angehen und für Hunde, Mäuse und vor allem für Kaninchen pathogen sind (K. A. 7. 60).

Verdelli gewann aus dem Blute von 2 Kranken mit Pseudoleukämie und einem andern mit Leukämie Reinzüchtungen einer Staphylokokkenart, die sich auch in den Lymphdrüsen auffinden liess. Da Eiterherde bei den Kranken fehlten, und durch Ueberimpfungen auf Tiere keine Eiterungen erzeugt werden konnten, erklärte er die gefundnen Bakterien für abgeschwächte pyogene Staphylokokken (C. f. d. med. Wissenschaften 93. 545).

Bei Skorbut, sowie bei Pocken liessen sich in reinen Fällen bisher ebenfalls keine Bakterien nachweisen (Ueber die Befunde von Babes im Zahnfleisch Skorbutkranker s. S. 343, über Buttersacks Mikroorganismen in Pocken- und Vaccinepusteln S. 311).

Wichtige Aufschlüsse können Bluntuntersuchungen bei Tuberkulose geben. Die so sehr häufige sekundäre Infektion mit Eitererregern u. a. Bakterien an den tuberkulös erkrankten Stellen lässt in Analogie mit andern Eiterungsvorgängen einen positiven Ausfall der Blutuntersuchung erwarten. Der Beweis dafür wurde von Jakowski erbracht, der in mehreren Fällen Trauben- und Kettenkokken im Blute hektisch fiebernder Schwindsüchtiger antraf. Im Leichenblute fanden Petruschky (D. 93. 317) und Canon (D. 93. 1038) wiederholt Streptokokken und Welch und Nutall einmal einen gasbildenden Kapselbacillus, einen fakultativen Anaëroben, der sich bei Gramscher Behandlung entfärbte (H. 2. 927).

Die mikroskopische Durchmusterung von Blutpräparaten, die mit der Ziel-Neelsenschen oder einer ähnlichen Methode (S. 360) behandelt worden sind, kann über das Einsetzen einer Miliartuberkulose Aufschluss geben; doch ist der einwandfreie Nachweis*) kaum erbracht; man hatte (ausser Sticker J. 1. 81, Meisels, Lustig W. 84. 1187) nur negative Ergebnisse. Später, wenn die Tuberkelbazillen bereits an Ort und Stelle liegen, kreist keiner mehr im Blute. Der Züchtungsnachweis im Blute und die Ueberimpfung von Blutproben aufs Tier ist kaum schon versucht worden, obwohl sie viel aussichtsvoller wären, wie die mikroskopische Untersuchung.

Das Rückfallfieber

wird durch die bereits im Jahre 1876 von Obermeier entdeckten Rekurrensspirochäten veranlasst, die stets, gewöhnlich aber nur während des Fieberanfalls im Blute nachweisbar sind und — besonders in den Organen — nicht immer rasch gefunden werden. Naunyn (Cr. 4. 434) fand sie in einem Falle auch nach dem Temperaturabfall längere Zeit hindurch täglich. Die schraubenförmigen Gebilde haben im lebenden Zustande eine rasche Eigenbewegung, sind mit drei und mehr Spiralengängen versehen und an den Enden zugespitzt (Photogr. Taf. V Nr. 31). Da sie sich künstlich nicht züchten lassen und von Versuchstieren bloss der selten zu habende Affe geeignet ist, so kann sich die Diagnose nur auf die mikroskopische Untersuchung stützen, die in jedem Falle gemacht werden soll.

Die Färbung gelingt schon mit einfachem wässrigem Fuchsin, jedoch sind einige verbesserte Methoden angegeben worden.

Günther empfahl das Präparat vor der Färbung 10 Sekunden in 5%iger wässriger Essigsäurelösung zu spülen, um den Blutkörperchen das Hämoglobin zu entziehen; dann soll es getrocknet und zur Entfernung des Restes der Essigsäure mit der Präparatseite nach unten

*) Dazu gehört neben einer sichern Handhabung der Technik die Verwendung neuer Gläser und absolut reiner Instrumente und Gefässe.

über eine geöffnete Flasche mit starker Ammoniaklösung gehalten werden; gefärbt wird nur ganz kurze Zeit mit Anilinölwassergentianaviolettlösung (F. 3. 755, vgl. a. S. 411).

Nach Baschenow ist der beste Farbstoff Dahlia; 1 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Lösung wird in 30 ccm Wasser gegeben und das Deckglas für 2—3 Stunden in die kalte oder für einige Minuten in die warme Farblösung gelegt. Gelobt wird auch das Verfahren nach Albrecht, der die fixierten Präparate 15—20 Minuten in Eisessig legt, mit Wasser und Alkohol auswäscht, trocknet und ungefärbt betrachtet (C. f. klin. Med. r. 93. 241).

Das Sumpffieber.

Veranlasser der Krankheit sind nicht Bakterien, sondern niederste, dem Tierreich zugehörende Organismen, Protozoën, die man als Plasmodien oder Hämatozoën, Hämamöben zu bezeichnen pflegt. Am besten heisst man sie Malariaparasiten. Sie wurden zuerst von dem französischen Forscher Laveran bei den algerischen Krankheitsformen im menschlichen Blute beobachtet. Mit ihrer Erforschung sind ferner die Namen der italienischen Gelehrten Marchiafava, Celli, Golgi, Guarnieri und andrer Männer verschiedner Nationen eng verbunden. In Deutschland fand sie zuerst Plehn, der sich mit besonderm Eifer ihrem Studium widmete.

Trotzdem die Züchtung der Malariaparasiten ausserhalb des Körpers noch nicht gelungen ist, mit der Uebertragung der Reinkultur auf Gesunde die Kette des Beweises für ihre ursächliche Bedeutung also noch nicht geschlossen werden konnte, so sehen wir uns doch gezwungen, sie als die Erreger des Sumpffiebers anzusehen, weil sie im Blute der Kranken stets angetroffen werden, und weil die Malaria mit dem Blute auf Gesunde übertragen werden kann, was C. Gerhardt schon vor der Entdeckung der Parasiten mit Sicherheit bewiesen hat.

In gewissen, besonders quotidianen und tertianen Fiebern schlägt ihr Nachweis mitunter fehl; in solchen Fällen wird die Untersuchung des durch die Milzpunktion gewonnenen Saftes empfohlen (Marchiafava und Celli).

Während die französische Schule nur eine Art von Parasiten für die verschiednen Fiebertypen anerkennt, führt die italienische die Verschiedenartigkeit der Erscheinungen auf besondre Arten von Malariaparasiten zurück. Verschiedne Forscher haben den hauptsächlich in der fieberfreien Zeit sich abspielenden Entwicklungsgang der Parasiten beschrieben; ich folge hier den Darstellungen von Marchiafava, Bignami (D. 92. 1157), Golgi (Z. 10. 136), Dolega (F. 8. 769), Bein (D. 92. 849).

Als 1. Stadium der Entwicklung findet man im Blute und zwar oft innerhalb der roten Blutkörperchen kleine, 1/8 — 1/10 von ihnen einnehmende, ausserordentlich bewegliche, nicht pigmentierte Parasiten, die amöbenartig kleine Fortsätze schnell ausstrecken und wieder einziehen; vermöge ihnen anhaftender Geisselfäden bewegen sie sich rasch vorwärts und dringen, wenn sie ausserhalb der Blutkörperchen sich befinden, bald in sie ein.

Hier wächst der Parasit und tritt ins 2. Stadium der pigmentierten Form: In seinem Leibe entstehen kleinste, ovale, lebhaft bewegliche, hellgelblich bis dunkelbraune und schwarze Körnchen.

Im 3. Stadium füllt der Parasit seinen Wirt fast ganz aus und fängt an, sich zu differenzieren und in die Sporulationsform überzugehen. Es entstehen erst kleine, rundliche, helle Segmente, zwischen denen die Pigmentkörnchen gleiten; hierauf kleine, rundliche, scharf getrennte Abteilungen und schliesslich lagert sich das Pigment ruhig zu kleinern Häufchen am Rande oder zu grössern Haufen in der Mitte dieser an Zahl und Grösse schwankenden Segmente ab, es bildet sich die von Plehn und Bein sogenannte Traubenform; die italienischen Forscher haben sie als Sternblumen- oder Gänseblümchenform bezeichnet, was zutrifft, wenn die Segmente ziemlich gleich gross und die pigmentierten Körnchen zwischen ihnen radienförmig angeordnet sind.

Hat der Parasit dieses Endstadium seiner Entwicklung erreicht, so zerfällt er, die Segmente gehen auseinander und der Pigmenthaufen bleibt in der Mitte liegen.

Die frei gewordnen Abschnitte wandern dann als neue Generation wieder in die roten Blutkörperchen in Gestalt der anfangs beschriebnen kleinen, beweglichen, nicht pigmentierten Plasmodien ein und gleichzeitig tritt der Schüttelfrost beim Kranken in die Erscheinung. Die Sporulation oder Spaltung fällt also mit dem Beginn eines jeden Fieberanfalls zusammen, während sich in der fieberfreien Zeit die Umwandlung des Parasiten, die Entwicklung einer Generation vollzogen hat.

Die Amöben des dreitägigen Fiebers vollenden ihren Entwicklungskreislauf in zwei Tagen, während das einfache viertägige Fieber durch die einzige Generation eines Parasiten bedingt ist, der drei Tage zu seiner Entwicklung braucht.

Nach Golgi sollen die den verschiednen Fiebertypen zu Grunde liegenden Parasiten verschieden sein; die Amöbe des dreitägigen Fiebers soll sich von der des viertägigen durch eine Reihe feiner, aber deutlicher Unterschiede auszeichnen, namentlich sollen sich die endlichen Teilungsformen beim dreitägigen Fieber in Gestalt einer grössern Anzahl von Tochterzellen und einer andern Gruppierung um den zentralen Pigmentblock darstellen.

Es können nun bei ein und derselben Amöbenart, z. B. der des viertägigen Fiebers, die Generationen der verschiednen Einzelindividuen zu andrer Zeit beginnen: dann entsteht nicht bloss alle 4 Tage ein Anfall, sondern vielleicht zwei- oder dreimal in 4 Tagen und damit ein doppeltes oder dreifaches Quartanfieber, das gewissen Formen der Quotidiana gleich ist.

Da die Entwicklungstadien des Parasiten bekannt sind, so kann nach Golgi der damit Vertraute aus dem einfachen mikroskopischen Blutbefund und den dabei beobachteten Entwicklungstadien bestimmen, sowohl vor wie langer Zeit der Fieberanfall stattgefunden hat, als auch wann er wieder kommen wird, ferner ob es sich um ein dreitägiges oder viertägiges Fieber handelt, und ob beim Quartanfieber alle 4 Tage 1, 2 oder 3 Anfälle sich herausbilden.

Ausser den bisher beschriebnen Formen begegnet man noch den halbmondförmigen Plasmodien, die Laveran zuerst beschrieben hat, und die deshalb auch Laverania genannt werden. Grawitz, der sie bei einem Fall von unregelmässiger (ostafrikanischer) Malariaerkrankung neben wenig amöboiden Typen ebenfalls in spärlicher Menge zu Gesicht bekam, beschreibt sie (B. 92. 138) als Gebilde mit stumpfen Polen, halbmondförmiger Krümmung und nicht ganz in der Mitte befindlicher Pigmentierung von der Gestalt zierlich kranzartig angeordneter, feinster, unbeweglicher Stäbchen. Bein sah in Trockenpräparaten alle möglichen Uebergänge von der runden in die Ei-, Spindel- und Halbmondform. Sie sollen hauptsächlich bei bösartigen Fiebern der Tropen zur Beobachtung gelangen. Ueber ihre Erklärung sind die Ansichten noch geteilt. Meist werden sie als Degenerationszustände, sterile Formen der gewöhnlichen Parasiten angesprochen (Bein u. a.); andre Forscher, wie Mannaberg, bestreiten das und halten sie für eine Art Dauersporen.

Bein erwähnt endlich noch eine in ihrem Wesen ebenfalls nicht genügend erkannte, grosse, geisseltragende Form, ähnlich der des 2. Stadiums der gewöhnlichen Parasiten, nur von grössern Dimensionen und mit spärlicherer Pigmentanhäufung. Die meist rundlichen, blassen Protoplasmakörper tragen lange Geisseln, die mit ihrer Bewegung selbst die anliegenden roten Blutkörperchen bei seite werfen können und mitunter losgerissen im Präparate gefunden werden.

Mannaberg unterscheidet zwei Gruppen von Malariaparasiten. Eine gutartige Formen erzeugende, mit direkter Sporulation, ohne Halbmonde (sog. Syzygien), Quartan- und Tertianparasiten; dann eine bösartige Formen erzeugende, wozu der pigmentierte und der nicht pigmentierte Quotidianparasit und der maligne Tertianparasit gezählt werden; beide mit Halbmonden. Die Laveranschen Körperchen gehen aus der kleinen Amöbenform des quotidianen Typus durch Konjugation zweier oder mehrerer solcher Parasiten hervor. Die Konjugation ist ein seltnes Vorkommnis und erklärt den seltnen Befund der Halbmonde. Für Malariakachexie sind Halbmonde nicht charakteristisch, sie können hier fehlen und bei Formen ohne Kachexie angetroffen werden (B. 93. 270 und 950)*).

Nach Kohlstock sind die Krankheitserreger der Malariaerkrankung in Brasilien, West- und Ostafrika, sowie in Neu-Guinea vollständig gleich (B. 93. 102).

Der Nachweis der Parasiten

hält, wenn sich erst der Blick darin etwas geübt hat, nicht schwer. Die Untersuchung geschieht am geeignetsten im ungefärbten, lebenden

---

*) Mannaberg, Die Malariaparasiten; auf Grund fremder und eigner Beobachtungen zusammengestellt. Wien bei A. Hölder. 1893. Eine Schrift, die jedem, der sich mit dem Nachweis und dem Studium der Form- und Lebenseigentümlichkeiten dieser Parasiten befassen will, sehr zu empfehlen ist.

Zustande in einem Teilchen eines Bluttropfens, der dem wohl gereinigten Finger, Ohrläppchen u. dgl. des Kranken entnommen und zwischen Objektträger und Deckglas in möglichst dünner Schicht ausgebreitet worden ist (S. 411).

Will man färben, so fixiert man vorher 6—8 Minuten in Alkohol und lässt ihn wieder verdunsten; diese Behandlung ist schonender, als die beim Bakteriennachweis geübte Durchziehung durch die Flamme. Die Färbung geschieht mit Methylenblau oder Gentianaviolett in gesättigter wässriger Lösung. Wird Doppelfärbung gewünscht, so lässt man nacheinander eine gesättigte wässrige Eosinlösung zur Rosafärbung der Blutscheiben und eine gesättigte wässrige Methylenblaulösung einwirken, die die Kerne der weissen Blutkörperchen und die Parasiten blau färbt (Laveran).

Plehn zog beide Zeiten zusammen; es bewährte sich am besten die 5—6 Minuten lange Einwirkung eines Gemisches von:

60 ccm gesättigter wässriger Methylenblaulösung,
20 ccm ½ %iger Eosinlösung in 75 % Alkohol,
40 ccm destilliertes Wasser,
12 Tropfen einer 20%igen Kalilauge.

Mannabergs Färbungsverfahren:

Man lässt das Trockenpräparat etwa 5 Minuten lang auf Wasser schwimmen, trocknet es zwischen Filtrierpapier und zieht es bis zur vollständigen Abgabe des Hämoglobins mehrmals durch eine sehr verdünnte Essigsäurelösung (1 Tropfen Essigsäure auf 20 ccm destillierten Wassers). Das farblose Präparat kommt dann für zwei Stunden auf die Fixierlösung, bestehend aus 30 Teilen konzentrierter wässriger Pikrinsäurelösung, 30 Teilen destillierten Wassers und 1 Teile Eisessig; dann für abermals zwei Stunden in absoluten Alkohol. Dann folgt 12—24stündige Färbung in Alaun-Hämatoxylin. Von einer möglichst alten Lösung von 10 g krystallisiertem Hämatoxylin in 100 g absolutem Alkohol wird vorm Gebrauch 1 Teil vermengt mit 2 Teilen einer ½ %igen Ammoniakalaunlösung. Schliesslich Differenzierung mit 0,25 % Salzsäurealkohol (Alkohol von 75 %) und Ammoniakalkohol (3 Tropfen Ammoniak auf 10 ccm 75 %igen Alkohols). Auswaschung in 80 %igem Alkohol. Xylol. Kanadabalsam. Die Strukturverhältnisse der Parasiten kommen dadurch zum Ausdruck. Parasiten und Leukozyten erscheinen blau, rote Blutkörperchen farblos.

Zu Täuschungen können die sog. Vakuolen der roten Blutkörperchen Veranlassung geben, zumal da sie ihre Form verändern können. In Wirklichkeit sind es Retraktionserscheinungen des Hämoglobinkörpers; es mangelt ihnen die Struktur, die den Parasiten als Lebewesen stets eigen ist. Sie entstehen durch lokale Schädigungen des Präparats (durch Druck, Oel u. dgl.); man sieht darum oft ganze Bezirke von fleckigen roten Blutkörperchen.

Ferner Blutplättchen. Auch ihnen fehlt die Struktur, sie färben sich diffus und haben kein Pigment.

Beim Suchen nach Malariapigment können schwarze Partikelchen sehr unangenehme Zweifel bereiten. Aus freiliegendem Pigment allein soll man nie das Vorhandensein einer Malariainfektion diagnostizieren. Weit bedeutsamer ist es, wenn das Pigment im frischen

Präparate in Leukozyten zu finden ist. Auch wenn es nur wenig Körnchen sind, bilden sie dennoch ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel, insbesondere, wenn kein Verdacht auf Recurrens besteht, wo im Blut ebenfalls Pigment vorkommt (Mannaberg a. a. O. S. 145).

Die spezifische Bedeutung der Malariaparasiten des Menschen, die bis jetzt ausserhalb des Körpers noch niemals nachgewiesen werden konnten, schien etwas zweifelhaft, als Befunde von ähnlichen Protozoën im Blute mehrerer Vogelarten und selbst bei Kaltblütern gefunden wurden. Indessen hat es sich dabei, wie vornehmlich Laveran klarlegte, um Kleinwesen gehandelt, die wohl den Parasiten der Malaria ähnlich, aber nicht mit ihnen gleich sind.

Perles hat bei drei Fällen von **perniciöser Anämie** im hängenden Bluttropfen eigentümliche, unterm Wärmemikroskop bewegliche Parasiten gefunden. Sie waren länglich-elliptisch, sehr dünn und schmal, farblos und stark lichtbrechend und erreichten etwa die Hälfte eines roten Blutkörperchens. Je nachdem sie dem Beobachter die Kante, das Ende oder die Breitseite zuwandten, erschienen sie wie Punkte. Linien oder Plättchen, die, halb schraubenförmig gedreht, auch wohl löffelförmig aussehen konnten. Nicht bloss das Züchtungsverfahren, ja selbst der Färbungsversuch schlug fehl (B. 93. 963).

Milch.

Die Absonderung der Brustdrüse ist, wie alle Sekrete, bakteriologisch wesentlich verschieden zu beurteilen, je nachdem sie frisch, sogleich nach dem Verlassen des Körpers, oder in irgendwelchen sterilisierten oder nicht keimfreien Gefässen längere oder kürzere Zeit aufbewahrt worden ist.

Zu diagnostischen Zwecken ist die Milch nur, wenn einwandfrei dem Körper entnommen und (ausser bei der Untersuchung auf Tuberkelbazillen) in vollständig frischem Zustande zu verwenden. Die Brustwarze und ihre Umgebung muss nach den bekannten Regeln mit warmem Wasser, Seife, Alkohol, Sublimat, Alkohol und Aether gereinigt worden sein; die Milch muss womöglich ohne Berührung der Haut in einem sterilisierten Gefäss aufgefangen werden, um alsbald zur Aussaat zu gelangen, wenn es bei Verzichtleistung auf die Mengenbestimmung nicht vorgezogen wird, sie unter vorsichtigem Druck auf die Drüse direkt auf den bereitgehaltnen Nährboden zu spritzen. wie es v. Eiselsberg that (B. 91. 554).

Bei Mengenbestimmungen, die wie beim Wasser vorgenommen werden, ist die von K. B. Lehmann und Schulze bei der Tiermilch festgestellte Thatsache zu berücksichtigen, dass die zuerst entnommenen Portionen bedeutend keimreicher zu sein pflegen, als die folgenden. Denn die in den Ausführungsgängen zurückgebliebne oder nachsickernde Milch hat Gelegenheit, von aussen infiziert zu werden und bei der Körperwärme findet eine rasche Vermehrung der Keime statt. Dieselbe Milch, wovon die ersten Proben Hunderttausende, ja Millionen

Keime in 1 ccm aufwies, kann in der Folge keimarm, selbst keimfrei gefunden werden (A. 14. 260).

Nachweis der Tuberkelbazillen in der Milch.

Die einfachste und sicherste Art und Weise ist die Verimpfung der verdächtigen Milch in die Bauchhöhle von Meerschweinchen, die allerdings den Nachteil hat, dass sie erst nach mehreren Wochen Auskunft verschafft. Deshalb darf die mikroskopische Untersuchung nicht unterlassen werden, wenn sie auch nicht vollkommen zuverlässige Resultate gibt, da ein negativer Ausfall nicht gegen das Vorhandensein einer Tuberkulose der Brustdrüse spricht.

Hinderlich ist dabei der Fettgehalt. Alessi suchte die Fettkügelchen durch Verseifung auszuschalten; er vermischte 2—3 Tropfen mit ½ %iger Sodalösung auf dem Objektträger und erwärmte bis zur Eintrocknung. Den Uebelstand, dass das Seifenhäutchen bei der spätern Wasserspülung leicht weggeschwemmt wird, riet ich (C. 10. 293), durch Vermengung mit etwas Hühnereiweiss zu umgehen.

Arens bediente sich der fettlösenden Eigenschaft des Chloroforms: in einem Uhrschälchen wurden zu 12—15 Tropfen des gesättigt alkoholischen Fuchsins, 3—4 ccm Chloroform gegeben, wodurch gleichzeitig der Karbolzusatz entbehrlich wurde. Die in dieser Mischung 4 bis 6 Minuten lang gefärbten Präparate wurden in der gewöhnlichen Weise weiter behandelt (C. 11. 9).

Bessere Erfolge werden von einer vorbereitenden Behandlung durch Homogenisierung und Sedimentierung zu erwarten sein. Gute Dienste kann dabei die Zentrifuge leisten, nur ist es auch hier notwendig, zuvor das Fett auszuschalten, damit nicht die beim Ausschleudern nach oben strebenden Fetttröpfchen die Tuberkelbazillen mit sich reissen und sie so dem Nachweis im Niederschlag entziehen.

Ein von Ilkewitsch angegebnes Verfahren wird folgendermassen ausgeführt (M. 92. 68):

20 ccm entrahmter Milch werden mit verdünnter Citronensäure zur Gerinnung gebracht.
Abfiltrierung der Molken.
Auflösung des Kaseïnrückstandes in mit phosphorsaurem Natron versetztem Wasser.
Zugabe von 6 ccm mit Wasser gemischten Aethers.
10—15 Minuten lang schütteln.
Einfüllung in einen Scheidetrichter zur Ablagerung des Fettes an der Oberfläche.
Ablassung der untenstehenden Flüssigkeit.
Versetzung mit verdünnter Essigsäure, bis die ersten Anzeichen von Gerinnung sichtbar werden.
10—15 Minuten zentrifugieren (Ilkewitsch bediente sich dazu eigner Probierröhrchen). Untersuchung nach einer der bekannten Methoden.

Thörner, dem dieses Verfahren zu zeitraubend erschien, schlug ein andres vor, das übrigens kaum kürzer und einwandfreier ist (H. 2. 1091):

20 ccm Milch werden in einem Gefäss von 50 ccm Inhalt mit 1 ccm 50%iger Kalilauge gut durchgemischt.
Das Gefäss wird in kochendes Wasser gestellt, bis die Flüssigkeit gelbbraun geworden ist.
Zusatz von 20 ccm Eisessig.
Im verschlossnen Gefäss gut durchschütteln.
3 Minuten ins kochende Wasser: danach muss die Flüssigkeit völlig homogen, durchscheinend und frei von Kaseïnflocken sein.
10 Minuten zentrifugieren.
Abgiessung der überstehenden Flüssigkeit.
Bodensatz gut auswaschen, mit Wasser aufschwemmen.
Nochmal zentrifugieren.
Anfertigung eines gefärbten Präparates aus dem Bodensatze.

In Ermanglung einer Zentrifuge rät van Ketel seine Karbolmethode (S. 354) an: 15 ccm Milch werden in einem weithalsigen 100 ccm-Fläschchen mit 6 ccm Acid. carbolic. liquefact. vermischt und geschüttelt. Danach wird das Fläschchen mit Wasser angefüllt und nochmals geschüttelt, sein Inhalt sodann in ein Spitzglas zur Absetzung ausgegossen (A. 15. 125). Nach 12 oder 24 Stunden werden Präparate angefertigt und vor der Färbung in Aetherspiritus (1 : 3) ausgewaschen.

Diese verschiednen Methoden zur Auffindung der Tuberkelbazillen sind nicht sowohl zur klinischen Diagnose bestimmt gewesen, als insbesondre zur Erkennung der Gesundheitschädlichkeit der Milch von Tieren angegeben worden, denn die Milch wird nicht immer, wie es wünschenswert wäre, vor dem Genusse gekocht — niemals, wenn sie zu weitern Erzeugnissen der Milchwirtschaft verarbeitet wird. Von verschiednen Seiten (Ernst, Hirschberger u. a.)*) ist festgestellt, dass auch ohne nachgewiesne Eutererkrankung tuberkelbazillenhaltige Milch von tuberkulösen Tieren geliefert werden kann.

In Paris darf in richtiger Erkenntnis der Gefahr überhaupt nur Milch von solchen Kühen zum Markte kommen, die vorher mit Tuberkulin geprüft waren und nicht reagiert hatten.

Auch **andre Krankheitserreger** können durch die Milchdrüse kranker Menschen oder Tiere ausgeschieden werden. Aber wenn man sie in der Milch findet, ist Vorsicht in der Deutung nötig, denn nach den Untersuchungen von Ringel (M. 93. 513), Honigmann (Z. 14. 207) u. a. werden die bekannten Eitererreger, vornehmlich der weisse und der gelbe Traubenkokkus sehr häufig in der Milch gesunder Wöchnerinnen nachgewiesen; sie sind jedenfalls von aussen her in die Milchausführungsgänge eingewandert. Ein Befund aber, wie ihn Bozzolo hatte, der aus der Milch einer pneumoniekranken Stillenden den lanzettförmigen Kapselkokkus züchtete, spricht direkt für eine Ausscheidung des Kleinwesens aus dem Körper durch die Milchdrüse.

Derartige Ausscheidungen erfolgen auch auf anderm Wege, durch die Absonderung der Augenbindehaut (Passet, Longard), durch den Speichel (Brunner), durch den Schweiss und durch den Harn.

---

*) Siehe Würzburg, Ueber Infektionen durch Milch. Therapeutische Monatshefte. 91. 18.

Schweiss.

Der Nachweis von Bakterien im Schweiss kann natürlich nur bei Ausschluss aller Verunreinigungen durch Hautmikrophyten erbracht werden.

Am geeignetsten wird die Stirngegend gewählt. Die Haut wird nötigenfalls rasiert, mit warmem Seifenwasser abgebürstet, mit Alkohol, Sublimat, Alkohol und Aether gewaschen und getrocknet, nachdem der zu Untersuchende ein schweisstreibendes Mittel (heissen Thee, Pilokarpin, Phenazetin oder dgl.) erhalten hat. Die austretenden Schweisströpfchen nimmt eine feine Platinöse ohne die leiseste Berührung der Haut auf und überträgt sie auf Agar- oder Gelatineplatten.

Mit diesem Verfahren gelang es Brunner (B. 91. 505) und fast gleichzeitig v. Eiselsberg (B. 91. 553), dann F. Gärtner (Cr. 11. 250) im Schweisse Pyämischer und Septikämischer das Vorkommen eitererregender, weisser und gelber Staphylokokken festzustellen; Geisler berichtet sogar von einem schweren Typhusfalle, wo die Typhusbazillen im Schweisse vorhanden gewesen sein sollen (C. 13. 767). In jedem Falle müssen, wenn einigermassen Aussicht auf Erfolg sein soll, viele Proben angesetzt werden, v. Eiselsberg sah z. B. unter 20 Aussaaten von demselben Kranken nur 4 angehen.

Nicht unwichtig ist es, bei derartigen Untersuchungen die Reaktion des Schweisses zu prüfen. Einen Anhaltepunkt dafür haben wir in den Heussschen Mitteilungen (M. f. pr. D. 14. 343), denen zufolge der Schweiss beim ruhenden Menschen stets sauer ist, während der durch Pilokarpin oder durch warme Bäder hervorgerufne profuse Schweiss wenig sauer bis alkalisch reagiert.

Harn.

Der normale Harn der gesunden Blase ist keimfrei. Finden sich im gelassnen Urin des Gesunden Bakterien, so stammen sie entweder von der äussern Mündung der Harnröhre oder aus dieser selbst; dass in ihr Bakterien enthalten sein können, ist verschiedentlich erwiesen. Rovsing*) z. B. fand bei 15 Männern, 10 Frauen und 5 Knaben nach Einführung eines sterilen Platindrahtes und Ueberimpfung auf Nährmittel in den meisten Fällen Bakterien, nur bei 3 Männern, 4 Frauen und 1 Knaben nicht. Sogar der weisse und gelbe Traubenkokkus, sowie Kettenkokken waren darunter.

Mit Berücksichtigung dieser Thatsache wird ein einigermassen gewandter Untersucher keinen Fehler bei der Deutung begehen, wenn es sich darum handelt, durch Bakterien bedingte krankhafte Zustände festzustellen. Denn jeder sofort nach der Entleerung untersuchte normale Harn enthält höchstens nur wenige Keime (s. sp.). Ganz anders

---

*) Die Blasenentzündungen, ihre Aetiologie, Pathogenese und Behandlung. Berlin bei A. Hirschwald. 1890. S. 60.

beim pathologischen Urin. Dieser braucht gar nicht getrübt zu sein, was bei grösserm Bakteriengehalt allerdings vielfach der Fall ist. Die unter den nötigen Vorsichtsmassregeln gemachte Aussaat wird eine beträchtliche Menge von Keimen entdecken lassen.

Ist der Urin aber einmal mit nicht keimfreien Gefässen in Berührung gekommen, oder gar einige Zeit nach der Entleerung gestanden, so ist er für bakteriologische Untersuchungen überhaupt nicht mehr zu gebrauchen.

Wie rasch sich oft Bakterien im Harn ausserhalb des Körpers vermehren und zu Täuschungen Anlass zu geben imstande sind, davon ein Beispiel von vielen.

Der Urin eines mit Incontinentia urinae behafteten Mannes sollte auf Eiweiss untersucht werden. Der Wärter brachte mehrere Tage hintereinander einen Urin, der angeblich nur kurze Zeit, höchstens wenige Stunden gestanden hatte, und aus dem sich die immer vorhandne Trübung mit Filtration durch Filtrierpapier nicht wegbringen liess, so dass eine Eiweissprobe unmöglich gemacht war. Derartige Urine sind bakterientrüb; die in ihm enthaltnen körperlichen Bestandteile sind so klein, dass sie durch die Maschen des Filtrierpapiers, die andre geformte Bestandteile (Epithelien, Krystalle u. dgl.) zurückhalten, leicht durchschlüpfen können*). Als mir der betreffende Harn gezeigt wurde, ordnete ich an, der Kranke solle vor meinen Augen, nachdem die Harnröhrenmündung mit in schwache Karbollösung getauchter Watte mehrmals abgewischt war, seinen Urin in ein sterilisiertes, mit überfallendem Glasdeckel bedecktes Becherglas entleeren. Da das aber, wenn man hinsah (wie so häufig) nicht gelang, so musste ihm das sterilisierte Becherglas nach Abnahme des Deckels allein überlassen werden, und es währte einige Minuten, bis er eine Menge von etwa 50 ccm zu Tage förderte. Dieser nun ganz klare, schwach saure Urin**), erwies sich eiweissfrei. Des Interesses halber entnahm ich mit sterilisierter Pipette ¼ und 1 ccm des Urin, vermischte diese Mengen in je einem Reagensröhrchen mit verflüssigter Gelatine und legte zwei Rollplatten an. Trotz der mancherlei Fehlerquellen, die diesem Versuche anhafteten, gingen in der ersten Aussaat gar keine, in der zweiten 8 Kolonien auf.

Es war somit sicher, dass der Mann einen normalen Urin entleerte, und dass die früher beobachteten Trübungen ihren Ursprung in Keimen haben mussten, die von der Aussenwelt stammten und zum grössten Teil jedenfalls in dem fortwährend benützten Uringlase sassen. Andrerseits geht aus dem Versuche hervor, dass gewisse Fehler bei der Entnahme keinen erheblichen Einfluss auf den Bakteriengehalt haben, wenn nur die Aussaat sofort angeschlossen wird.

Die einzige Ausnahme, bei der nicht unbedingt frisch gelassner Urin zur Untersuchung erforderlich ist, besteht, wenn auf **Tuberkelbazillen** gefahndet werden soll.

Zu diesem Zweck muss sedimentiert werden. v. Sehlen bewerkstelligte es mit Wendriners Boraxborsäurelösung (S. 354), E. de Vos setzte eine Eiweisslösung zu und erwärmte, damit die ausgeschiednen Flocken des geronnenen Eiweisses die Bazillen mit zu Boden reissen möchten, und verfuhr dabei also (J. 7. 808):

Zunächst wurde reines Eiweiss mit der 4fachen Menge destillierten Wassers versetzt, wobei sich eine grossflockige Masse, wahrscheinlich aus Globulinen bestehend, am Boden des Gefässes absetzte. Von dem darüber befindlichen, opaleszierenden,

---

*) Jolles empfiehlt solche bakterientrübe Harne vor der Anstellung der Eiweissreaktion durch Schütteln mit Kieselgur zu klären (C. f. klin. Med. r. 91. 169).

**) Der Bakteriologe prüft die Reaktion nicht durch Hineinhalten eines Streifens Lakmuspapiers in die Flüssigkeit, sondern er nimmt mehrmals Tröpfchen mit einer jedesmal frisch geglühten Platinöse heraus und betupft damit das auf einer Glasplatte liegende (allenfalls angefeuchtete) Reagenspapier.

verdünnten Eiweiss' wurden bis zu 10 ccm dem Urin zugesetzt, das Ganze gut durchgeschüttelt und bis zur Gerinnung des Eiweisses, die zwischen 65—70° erfolgt, im Wasserbade erhitzt.

Auch das Biedertsche Sendimentierungsverfahren — Kochen mit einigen Tropfen Kalilauge und Stehenlassen im Spitzglase (S. 353) — lässt sich anwenden.

Wer eine Zentrifuge hat, verwendet sie mit Vorteil. Fürchtet man, dass die ausgeschleuderten Teilchen schlecht am Objektträger haften und bei der Wasserspülung fortgeschwemmt werden könnten, so vermischt man das Ausstrichpräparat mit einer Spur frischen Hühnereiweisses.

Um solches immer unverdorben bei der Hand zu haben, vermischt man es mit gleichen Teilen kalt gesättigter Borsäurelösung, die an 4% Borsäure gelöst enthält. Die Lösung geht klar und ohne Schwierigkeit durchs Filter und hält sich unbegrenzt. Mitunter scheidet sich nach einiger Zeit ein geringer Bodensatz von ausgefällter Eiweisssubstanz ab, der durch erneute Filtration leicht zu beseitigen ist (v. Sehlen, C. 4. 686).

Die Färbung geschieht nach einer der gebräuchlichen Methoden (S. 358). Finden sich keine Tuberkelbazillen, so versäume man nicht vom frischen Harn oder vom frischen, durch die Zentrifuge gewonnenen, in sterilem Wasser, oder in Bouillon, oder in etwas Harn selbst aufgeschwemmten Niederschlag, einem oder mehreren Meerschweinchen eine Portion (5—10 oder mehr ccm) in die Bauchhöhle zu spritzen. Freilich kann ein Ergebnis erst nach einigen Wochen (längstens nach 40—50 Tagen) erwartet werden.

Zur Untersuchung auf **Gonokokken** eignet sich nur ganz frisch gelassner Harn. Sowie sich andre Bakterien in ihm angesiedelt haben, ist die Erkennung der Tripperkokken mehr oder weniger schwierig und unsicher, da die im Harn vorhandnen Epithel- und Eiterzellen von Saprophyten besetzt sein können, die zur Verwechslung Anlass zu geben imstande sind. Die Untersuchung wird oft zur Feststellung verlangt, ob ein Tripper geheilt ist. Dann ist es das erste, dass man den Harn in einen Glascylinder (ein Spitzglas) giesst und seine Aufmerksamkeit dem Vorhandensein von „Tripperfäden“ zuwendet. Die schleimigen, grössern oder kleinern Fetzchen werden mit einer Pipette herausgeholt, deren obere Mündung während der Einführung in die Flüssigkeit mit dem Zeigefinger verschlossen ist; sobald die Spitze der Glasröhre an dem zu fischenden Teilchen angekommen ist, wird der Finger gelüftet; je tiefer sich der Tripperfaden in der Flüssigkeit befindet, desto rascher wird er mit der einstürzenden Flüssigkeit in die Pipette gerissen; ein erneuter Verschluss der Mündung mit dem Zeigefinger gestattet dann leicht, die Probe herauszuheben.

Findet man in dem zwischen Objektträger und Deckglas ausgebreiteten Schleimfädchen massenhafte Leukocyten, so ist das ein so gut wie sichres Zeichen, dass die Gonorrhoe noch vorhanden und der Patient von seinem Tripper noch nicht geheilt ist, auch wenn scheinbar kein Ausfluss mehr besteht. Nur bei sehr lange sich fortziehenden Harnröhrenkatarrhen ist die Möglichkeit vorhanden, dass das Sekret nicht mehr infektiös ist. Jedenfalls muss man immer noch auf den Nachweis der Gonokokken bedacht sein und ein gefärbtes Präparat

vom angetrockneten Tripperfaden machen. Man muss auch in jungen Fällen oft lange suchen und viele Gesichtsfelder mit der Oelimmersion durchmustern, bis man ein gonokokkenhaltiges Eiterkörperchen antrifft. In der Regel haben nur die in den charakteristischen Häufchen innerhalb der Leukocyten gelegnen semmelförmigen Kokken Gültigkeit, wo sie zwischen ihnen liegen, muss wenigstens die Form der Leukocyten noch angedeutet sein, die ganz frei oder an Epithelzellen haftenden haufenförmigen Anordnungen können nur dann als Gonokokken angesprochen werden, wenn ihre Zusammenlagerung und typisch semmelförmige Gestalt keinen Zweifel aufkommen lässt (s. Photogr. Taf. V Nr. 29).

Leute, die bereits ganz klaren, von sichtbaren Bestandteilen freien Harn entleeren, können doch noch Ansteckungstoff in ihrer Harnröhre bergen. Von solchem Urin habe ich mit Hilfe der Zentrifuge noch gonokokkenhaltige Eiterkörperchen gewonnen, wo auf gewöhnlichem Wege und mit blossem Auge scheinbar nichts mehr zu erwarten war.

Die Färbung erfolgt am besten mit verdünnter Karbolfuchsinlösung, oder auch mit Gentianaviolett oder mit basisch Blau. Blau gefärbte Gonokokken (und Bakterien überhaupt) sind weniger dick und gesättigt, wie rot oder violett gefärbte.

Die Kultur zur Diagnose der Gonorrhoe aus dem Harn heranzuziehen, ist möglich, jedoch zu umständlich, da die Anerkennung der gewachsnen Ansiedlungen als Gonokokkenkolonien immerhin grosse Vorsicht erfordert. Im übrigen verweise ich auf den Abschnitt über Gonokokken S. 434.

Für den Nachweis aller **andern züchtbaren Bakterien** im Harn gilt die Regel, Kulturen auf Platten von Agar oder Gelatine (Rollplatten) aus dem frisch gelassnen oder künstlich entnommenen Urin anzulegen.

Das Wichtigste dabei ist die Art und Weise der **Gewinnung des Aussaatmaterials.**

Am leichtesten und einfachsten gelingt sie aus dem Inhalt der Blase frischer Leichen. Eine sterilisierte Stroscheinsche Spritze wird in das freigelegte, oberflächlich mit Sublimatlösung abgewaschne Organ eingestochen, und vom angesaugten Inhalt eine bestimmte Menge zu Platten verarbeitet oder ein Tröpfchen auf der Oberfläche von Nähragar im Schälchen ausgestrichen.

Am Lebenden wird die einwandfreie Entnahme durch die Katheterisierung oder durch die freiwillige Entleerung mit Auffangung eines Teils des kräftigen Strahles erzielt.

Die Katheter werden vorher durch Ausglühen oder im Trockenschrank, oder im Dampf sterilisiert. Dazu ist von Rohrbeck (Berlin) ein eigner Apparat hergestellt worden. Im Laboratorium behandelt man Katheter wie Pipetten, indem man sie mit dem geschlossnen Ende nach unten in eine Büchse von Eisenblech bringt, die aber der Form und Grösse der Instrumente angepasst, vom Klempner eigens gefertigt werden muss. Die Trockenschränke gewöhnlicher Grösse (S. 53) haben nicht den Raum, solche lange Büchsen aufzunehmen; man ist deshalb.

wenn man nicht jedes einzelne Instrument ausglühen und die Abkühlung abwarten will, auf die Sterilisierung im Dampf angewiesen. Steht keine eigne Vorrichtung dafür zur Verfügung, so bringt man die Blechbüchse mit geöffnetem Deckel in den Dampfapparat und schliesst sie augenblicklich bei der Herausnahme aus dem Desinfektor. Aus leicht einzusehenden Gründen müssen diese immer mehr oder weniger feuchten Katheter bald zur Verwendung kommen.

Die notwendige Einfettung vor der Einführung soll mit sterilisiertem Oel geschehen. Olivenöl wird in einem geeigneten, weithalsigen, mit Watte verschlossnen Gefäss (Kölbchen) $^1/_2$ Stunde bei 160 ° gehalten. Ist die äussere Harnröhrenmündung und ihre Umgebung regelrecht gereinigt und desinfiziert, so fettet man den Katheter ein, aber nicht etwa durch Bestreichung mit dem Finger, sondern man taucht ihn ins sterilisierte Oel und trägt durch geeignete Auf- und Niederneigung Sorge, dass sich das Oel eine Strecke weit über die Aussenfläche des Katheters verteilt. Hängt noch genug Oel am Ende des Instruments, so wird auch die Harnröhrenmündung davon bedeckt und der eingeführte Katheter fettet sich allmählich von selbst daran.

Der ausfliessende Harn wird in sterilen Gefässen aufgefangen. Man stellt mehrere mit Wattepfropfen versehene, im Trockenschrank sterilisierte Kölbchen von etwa 100 ccm Inhalt bereit, damit man verschiedne Proben des Urins auffangen kann, die alsbald der Reihe nach numeriert werden; denn die erste Portion kann noch Bakterien enthalten, die aus der Urethra stammen, und bei der Katheterisierung ist es wohl möglich, dass Keime von der Harnröhre in die Blase geschoben werden.

So einfach und gefahrlos die Katheterisierung mit sterilen Instrumenten von geübter Hand ist, so eignet sie sich doch nicht für jeden Fall aus Rücksicht für den Kranken. In solchen Fällen ist man auf die Gewinnung des Urins durch freiwillige Entleerung in sterilisierte Gefässe angewiesen. Bei Frauen steht sie zwar, was die Sicherheit der Keimfreiheit betrifft, der Katheterisation erheblich nach, bei Männern aber gelingt sie so gut wie einwandfrei. Bei Kranken, die sich im Zimmer bewegen können, macht sie keine Schwierigkeit, mehr aber bei bettlägerigen. Wer öfters derartige Untersuchungen ausführen muss, möge sich eine oder zwei Urinflaschen von der Form der gewöhnlichen, schlanken, gläsernen, aber aus emailliertem Blech fertigen lassen. Diese Urinale müssen nach gehöriger Reinigung mit einem Wattepfropf bedeckt im Dampftopf sterilisiert werden. Dann übergibt man sie dem Krankenpfleger mit der Weisung, im Bedarfsfalle den Pfropfen abzunehmen, ohne ihn mit einem andern Gegenstande in Berührung zu bringen (sicherheithalber gibt man eine Klemmpinzette zum Halten des Stopfens dazu), und sobald der Harn entleert ist, den Stopfen wieder aufzusetzen und das Gefäss ungesäumt ins Laboratorium zu verbringen. Kann hier die Untersuchung aus äussern Gründen nicht sofort vorgenommen werden, so soll man überhaupt auf sie verzichten.

Es werden davon $^1/_{10}$—1 ccm oder weniger, je nach dem vermuteten Bakteriengehalte ausgesät. Dann erst holt man eine Probe zur mikroskopischen Untersuchung oder allenfallsigen Sedimentierung (Ausschleu-

derung) heraus und schliesst, wenn es im Interesse des Versuchs liegt, gleichzeitig eine Tierimpfung daran. Man kann den Tieren verhältnismässig grosse Mengen Harns ohne Nachteil in die Bauchhöhle spritzen, Mäusen z. B. 1 ccm, Kaninchen, Meerschweinchen 10 ccm und mehr; doch genügt zur Untersuchung auf Krankheitserreger eine geringere Gabe.

Endlich versäume man nie, ausser der Menge, der Farbe und des Aussehens die Reaktion des Harns in der vorhin (S. 424 Anm.) angegebnen Weise zu prüfen.

Bakterien, die aus dem Harn durch das Plattenverfahren gezüchtet wurden, namentlich alle noch nicht näher bekannten, müssen unter anderm auf ihr Wachstum im Harn und auf ihr Vermögen, Harnstoff zu zerlegen, untersucht werden.

Man bedarf dazu keimfreien Urins. Ueber seine Gewinnung s. S. 86. Nach Anlegung der Aussaaten von Harnbakterien muss geprüft werden, ob sich die Reaktion durch die Bakterienentwicklung geändert hat. Wenn bei einem Falle von Blasenkatarrh alkalischer Harn gefunden wird, so müssen die daraus gezüchteten Bakterien den Harnstoff ebenfalls unter Ammoniakbildung zersetzen. Das Umgekehrte aber ist nicht mit derselben Regelmässigkeit zu erwarten. Ich fand z. B. Bakterien aus sauerm Harn, obwohl sie Säurebildner waren, mit der Eigenschaft begabt, ausserhalb des Körpers den Urin alkalisch zu machen, eine Eigenschaft, die sie in der Blase wahrscheinlich aus Mangel an Sauerstoff nicht entfaltet hatten (M. 92. 435).

Zum weitern Studium der Wirkung von im Harn gefundnen Bakterien ist die Einführung ihrer Reinkulturen in die Blase von Tieren notwendig. Es ist nicht ganz leicht, Kaninchen oder gar Meerschweinchen mit ihrer engen Harnröhre zu katheterisieren. Die Tiere müssen dazu auf einem passenden Brette aufgespannt sein. Man führt entweder kleine Mengen der Kultur mit dem Platindraht in die Harnröhre, oder man spritzt grössere Mengen durch einen dünnen, ausgekochten Gummikatheter oder durch ein im stumpfen Winkel leicht gebognes, nicht zu schwaches, 2—3 mm dickes, 8 cm langes Glasröhrchen mit einer angesetzten Spritze in die Blase.

Pflanzenfresser (Kaninchen, Meerschweinchen) haben bekanntlich alkalischen Harn, so dass die Reaktionsprüfung keinen Aufschluss über harnstoffzersetzende Wirkung von Bakterien gibt. Soll diese mit in Betracht kommen, so müssen Fleischfresser (Hunde) zum Versuch genommen werden.

Die bakteriologische Untersuchung des Urins **im Verlaufe von Infektionskrankheiten** kann teils zur Richtigstellung einer zweifelhaften Diagnose führen, teils Aufschlüsse über die Funktion der Nieren geben. Nach Wyssokowitsch (Z. 1. 1), Seitz u. a. können Bakterien in das Nierensekret übergehen, wenn innerhalb des Organs erkennbare krankhafte Veränderungen sich abspielen, wenn Blutaustritte erfolgt sind, oder grössere oder kleinere Bezirke in irgend welcher Weise z. B. koagulationsnekrotisch (Singer, Heim) verändert sind. Eine Ausscheidung von Krankheitserregern aus dem Körper, d. h. aus dem Blute durch die Nieren ist bis jetzt bei unverletztem Nierengewebe

einwandfrei noch nicht nachgewiesen worden. Man wird demnach erwarten dürfen, dass in den Fällen, wo Bakterien von den Nieren in die Blase gelangt sind, der Urin eiweisshaltig sein wird. Indessen berichtet Neumann (B. 88. 146) von dem reichlichen Vorhandensein gelber Traubenkokken im eiweissfreien Harn eines Osteomyelitiskranken.

Eitererreger werden sehr oft bei Wundinfektionskrankheiten und bei Septikämie mit dem Harn ausgeschieden. Dass man bei Scharlach wiederholt Streptokokken im Harn begegnete, kann bei der Häufigkeit dieser Kleinwesen als nachträgliche Einwanderer in den vom Scharlachgift geschwächten und gewissermassen dafür vorbereiteten Körper einerseits und der begleitenden Nierenentzündung andrerseits nicht wunder nehmen. Ob dagegen frische, spontan auftretende Nierenentzündungen durch eine besondre Bakterienart bedingt sind, ist noch nicht ausgemacht. Grade Streptokokken sind es wieder, die man dabei antraf. Lustgarten und Mannaberg fanden sie unter 14 Fällen 11mal (Cr. 5. 93). Regelmässig kommen sie also bei der Nierenentzündung nicht vor. Ich selbst habe den Harn eines noch ziemlich frischen Falles mit negativem Ergebnis untersucht, es fanden sich überhaupt keine Bakterien in ihm.

Bei andern Krankheiten trifft man nicht selten, wie schon erwähnt, die zugehörigen Erreger in den Nieren oder im Harn an. So wiesen Nauwerck u. a. Kapselkokken bei Nephritis im Gefolge von Lungenentzündung nach. Der Typhusbazillus erscheint (s. S. 391) öfters im Harn, so dass seine bakteriologische Untersuchung diagnostische Aufschlüsse geben kann*).

Nicht leicht bei einer andern Krankheit scheint die Plattenaussaat des Urins so gute diagnostische Anhaltepunkte zu geben, als beim fieberhaften Ikterus oder der Weilschen Krankheit, was von Jäger hervorgehoben wurde, der den Erreger dieser Infektionskrankheit entdeckte (Z. 12. 525).

Unter sechs Fällen fand sich bei vier in Heilung endigenden der eigentümliche Bacillus proteus im Harn, während er sich in den übrigen beiden nicht oder nicht mit absoluter Sicherheit darin nachweisen liess. (Bei zwei weitern tödlich endigenden Fällen wurden aus dem Harn, da die Wichtigkeit noch nicht bekannt war, keine Kulturen angelegt; die Bakterien fanden sich in den verschiednen Organen, nicht aber im Blute.)

Bei jedem Verdacht auf Weilsche Krankheit muss deshalb der Harn untersucht werden, zumal da beim Ausgang in Heilung sonst kein Organ oder Sekret zur Verfügung steht, ausser dem Stuhl, dessen Untersuchung aber lange nicht die eindeutigen Ergebnisse liefert, wie die des Urins.

Der Jägersche Bazillus zeichnet sich durch mehrere wesentliche Merkmale aus: Er wechselt ausserordentlich die Form, tritt bald als kurzes, bald als langes, dünnes oder dickes, bewegliches, zahlreiche

---

*) Auch nach dem Ablauf des Fiebers kann er sich noch im Harn vorfinden. Der einwandfreien Desinfektion und Beseitigung solchen Urins muss darum eine besondre Aufmerksamkeit zugewendet werden.

Geisseln tragendes Stäbchen auf. Er wechselt ferner merkwürdigerweise in seinem Vermögen, die Gelatine zu verflüssigen; ein Teil seiner Ansiedlungen besitzt Peptonisierungsvermögen, ein andrer nicht, gleichviel, ob das Ausgangsmaterial von verflüssigenden oder nicht verflüssigenden Kolonien stammt. Eigentümlich ist ihm die Bildung eines grünlichen, fluoreszierenden Farbstoffes. Sein Entdecker belegte ihn mit dem Namen Bacillus proteus fluorescens (Photogr. Taf. VIII Nr. 46).

Wegen der Aehnlichkeit mit Proteusarten und fluoreszierenden Bakterien, die in faulenden Flüssigkeiten so häufig sind, muss man sich sehr vor Täuschungen hüten; es bedarf des Könnens und des kritischen Urteils eines bakteriologisch gut geschulten Untersuchers, um nicht Fehlerquellen zum Opfer zu fallen.

Der Diagnose kommt die Virulenz des Bazillus gegenüber Mäusen sehr zu statten. Nach Einschiebung einer Platinöse der Kultur oder eines Organstückchens unter die Haut an der Schwanzwurzel sterben die Tierchen zumeist binnen 3—11 Tagen. Viel sichrer ist es, von einer Aufschwemmung der auf festem Nährboden bei Körperwärme gezüchteten Bakterien oder von einer Bouillonkultur etwa 0,1 ccm den Mäusen in die Bauchhöhle zu spritzen. Diesem Eingriff erliegen sie bereits binnen 24 Stunden; die Milz zeigt sich geschwollen, die Leber verfettet und in den Organen lassen sich mit dem Mikroskop und durch die Kultur die eingeimpften Bakterien mit Leichtigkeit auffinden.

Für Hühner ferner ist der Bacillus proteus fluorescens äusserst pathogen.

Diese Tiere bildeten in den von Jäger beobachteten Fällen den Ausgangspunkt der Erkrankungen der Menschen. Aus Italien eingeführtes, krepiertes Geflügel war von Einwohnern des an der Blau, einem Nebenflüsschen der Donau gelegnen Dorfes Söflingen bei Ulm angekauft und zum Düngen verwendet worden. Darauf stellte sich eine Geflügelseuche in den Gehöften ein und auch einige Bewohner des Dorfes erkrankten an fieberhaftem Ikterus. Feste Abgänge, Kot, Stallstreu, Futterreste, krepiertes Geflügel, all das wurde der Blau überantwortet und von ihr der Donau zugeführt. Unterhalb der Einmündung lag die württembergische Militärschwimmschule, oberbalb lagen die übrigen Badeanstalten, darunter die des bayerischen Militärs. Bei diesem kamen keine Fälle von Weilscher Krankheit zur Beobachtung, wohl aber bei den württembergischen Soldaten, die in ihrer Schwimmschule gebadet hatten.

Amöben wurden im bluthaltigen Harn eines Mannes von Posner unter Verhältnissen gefunden, die keinen Zweifel liessen, dass die wiederholten Anfälle von Hämaturie mit diesen niedersten Tieren in Zusammenhang stünden. Sie kamen sowohl in einer ruhenden, als in einer beweglichen, pseudopodienausstreckenden Form zur Beobachtung und übertrafen die Blutkörperchen ums Vielfache an Grösse. „Man wird," so schreibt Posner (B. 93. 676), „jedenfalls in allen dunkeln Fällen von Hämaturie auf die beschriebnen Dinge sein Augenmerk richten müssen — vielleicht, dass die neuerdings von Winkler und Fischer angegebne elektrolytische Harnsedimentierung in der That, wie diese Forscher glauben, gerade für das leichtere Auffinden von Amöben im Harn von Wert sein und zu einer Vermehrung der Kasuistik beitragen wird — bei dem Harn unsers Patienten hat die Untersuchung seither kein positives Resultat ergeben."

Die verschiedenartigsten Kleinwesen sind bei **Blasen-**

katarrh im Urin zu finden, namentlich wenn die Fälle derart gelagert sind, dass infolge von Sphinkterenlähmung dem Zugang von aussen kein Hindernis entgegensteht. Von einheitlichen Ergebnissen kann natürlich hier nicht die Rede sein. Wird ein und dieselbe Bakterienart immer in derselben kranken Blase gefunden, so ist selbst das noch kein sichres Zeichen dafür, dass sie die Cystitis verursacht hat, hier muss eine vorsichtige Beurteilung auf Grund richtiger Versuche walten. Finden sich mehrere Bakterienarten, aber nicht bekannter Krankheitserreger, im Blaseninhalt, so lässt sich nicht mehr bestimmen, ob einem von ihnen und welchem ein ursächlicher Einfluss auf die Affektion zuzuschreiben ist.

Rovsing, der in seiner vorhin erwähnten Monographie über eine grössere Anzahl von ihm untersuchter Blasenkatarrhe berichtet, fand fünfmal Tuberkelbazillen, darunter war dreimal der Urin sauer mit eitrigem Bodensatz, aber ohne auf Gelatine und Agar angehende Keime; zweimal reagierte er alkalisch und wies neben Tripelphosphaten Kokken und Bazillen (aber erst nach stattgehabter Katheterisierung) auf. In den nicht auf Tuberkelbazillen zurückzuführenden Fällen liessen sich durch die Kultur stets Bakterien der einen oder andern Art, Aërobier, wie Anaërobier, pyogene und nicht pyogene gewinnen, sie waren sämtlich mit hydratisierenden Eigenschaften begabt, und jedesmal reagierte der entleerte Urin alkalisch. Nur in einem 30. Harn, der von einer Gonorrhoekranken stammte, war saure Reaktion vorhanden, aber auf den gewöhnlichen Nährboden züchtbare Kleinwesen fehlten. Nach du Mesnils Untersuchungen ist der Gonococcus ebensowenig wie der Tuberkelbazillus imstande, den Harn zu zersetzen (V. 126. 456).

Schnitzler*) fand 24mal unter 25 Fällen den Urin ammoniakalisch, einmal sauer ohne vorhandne Tuberkulose, 15mal war nur eine Bakterienart vorhanden, 10mal waren zwei oder mehrere Arten drin.

Bei dem von mir untersuchten Manne, der grosse Mengen plumper, nach Gram gefärbt bleibender, auf Gelatine kuppenförmige Kolonien bildender Kurzstäbchen mit dem sauern Harne entleerte, handelte es sich entweder um einen bis dahin nicht beschriebnen Fall von Blasenkatarrh mit sauerm, bakterienhaltigem Harn ohne Gonorrhoe und ohne Tuberkulose, oder nur um eine Urethritis, deren Entzündungsprodukte nachträglich in die Blase gelangten, ohne dass diese selbst erkrankte (s. a. S. 428). Eine bestimmte Entscheidung liess sich bei dem sonst gesunden, mit Incontinentia urinae behafteten jungen Manne nicht erbringen.

Bei Kranken mit chirurgischen Affektionen der Urinwege kann es leicht zu Blasenkatarrh kommen. Die gewöhnliche Ursache dieser sog. Urininfektion ist nach Krogius (Cr. 13. 730) ein nicht verflüssigender, in der Form sehr wechselnder Bazillus, der von Abarran und Hallé unter dem Namen Bacillus pyogenes beschrieben wurde, seltner gibt der Proteus vulgaris Hauser und der gelbe Traubenkokkus Veranlassung dazu.

Proteusarten finden sich nach Schnitzler häufig im Blaseninhalt von an Gebärmutterkrebs leidenden (operierten) Frauen, entsprechend

---

*) Zur Aetiologie der Cystitis. Wien und Leipzig bei Braumüller. 1892.

dem häufigen Vorkommen dieser Bakterien in jauchig zerfallenden, bösartigen Geschwülsten.

Auf die Zersetzungen des Harns ausserhalb des Körpers einzugehen, würde unsern Rahmen überschreiten. Die verschiedensten Bakterien wurden schon gefunden und studiert, namentlich solche, die die ammoniakalische Gärung (Hydratisierung des Harnstoffs) bewirken; diese Gärung ist immer von Bakterien abhängig, und mancherlei Arten können sie bedingen (v. Leube, Graser u. a.). Beim Stehen kann der Urin verschiedne Färbungen annehmen, schleimig werden, alles Bakterienwirkungen.

Die schmarotzenden Kleinwesen führen Anfänger bei mikroskopischen Untersuchungen des Harns gar nicht selten irre. Dichte Schwärme von Bakterien, sog. Zooglöen, die unter dem starken Trockensystem als lange Züge oder rundliche Haufen sich darzustellen pflegen, erregen nicht selten ihren Verdacht, es möchte sich um Cylinder handeln; Hefezellen wurden schon als Blutkörperchen angesehen, oder der junge Mikroskopiker stand ratlos vor den frisch hervorsprossenden Tochterzellen, die ihm als rätselhafte Gebilde erschienen.

Schliesslich bedürfen noch die Wahrnehmungen über die **Giftigkeit des Harns** der Berücksichtigung.

Normaler Urin hat, wenn er vor der Zuwanderung der Bakterien von aussen geschützt ist, keine nachteilige Wirkung auf die Gewebe (Tuffier Cr. 8. 437). Wohl aber scheint das vom Gesunden gelieferte Nierensekret giftig zu wirken, wenn es in grössern Mengen in die Blutbahn von Kaninchen und Meerschweinchen eingeführt wird. Bouchard fand, dass vom normalen, neutralisierten menschlichen Harn durchschnittlich 45 ccm in intravenöser Gabe erforderlich waren, um 1 kg Kaninchen unter den Erscheinungen der Urotoxie zu töten, und er berechnete als Ausdruck für die Grösse der giftigen Wirkung einen urotoxischen Koëffizienten, der z. B. beim gesunden Menschen zu 0,465 bestimmt wurde, d. h. ein gesunder Erwachsner entleert pro Kilogramm seines Körpergewichts und im Tag so viel Uringift, als zur Tötung von 465 g eines lebenden Tieres nötig ist.

Von infektiösen Kranken wirkt nach Feltz der Urin 2—3mal so giftig, wie der des Gesunden, wobei die Giftigkeit im Verhältnis zum spezifischen Gewicht stehen soll (F. 88. 164).

Den bluthaltigen Urin eines Rotlaufkranken fanden Brieger und Wassermann entsprechend der giftigen Wirkung des Bluts sehr giftig für Tiere; Mäuse z. B. sterben schon nach Einverleibung von 0,2 ccm in die Bauchhöhle (Cr. 12. 727).

Auch nicht bluthaltiger Urin von Kranken, so berichten verschiedne Autoren, ruft Vergiftungserscheinungen hervor.

Tetanusgift wird mit dem Urin nach Brieger höchstens in ganz geringen Mengen ausgeschieden. Vulpius konnte jedoch mit 2 ccm Urin von einem Tetanuskranken, der kurz nach dem Tode entnommen war, beim Meerschweinchen tödlichen Tetanus hervorrufen, während die einige Stunden vorm Ableben entnommene Probe nur tetanische Erscheinungen leichter Natur ausgelöst hatte, und eine weitere vier Stunden früher gewonnene Menge beim Tier wirkungslos geblieben war (D. 93. 992).

Behring gelang es in keinem der zehn von ihm untersuchten Fälle, mit dem Harn typischen Tetanus bei Versuchstieren hervorzurufen, obgleich immunisierende Stoffe darin vorhanden waren, was nicht bloss bei Geheilten, sondern schon dann der Fall war, wenn sich die Erkrankung zum Bessern wandte (Blutserumtherapie 2. 56).

Ferner soll der Harn von Pneumonikern, Malariakranken u. s. w. giftige Stoffe enthalten, und zwar in zunehmender Menge beim Temperaturabfall. Uebrigens erwies sich auch das Nierensekret von Personen, die an andern, als an Infektionskrankheiten litten, als giftig, so bei Addisonscher Krankheit, bei Leberleiden und bei Epilepsie (Griffiths)*).

Semmola empfiehlt sogar, unter gewissen Umständen die giftigen Eigenschaften des Urins zur Stellung der Diagnose und zur Voraussage zu verwenden. Freilich wäre die Ausführung ziemlich umständlich, denn man braucht eine Anzahl von Meerschweinchen oder Kaninchen, denen der Reihe nach verschieden grosse Gaben eingespritzt werden müssen und zwar zu verschiednen Zeiten der Krankheit, um eine Aenderung in der giftigen Wirkung wahrnehmen zu können.

In dem einen der von Semmola geschilderten Fälle lag eine schwere Lungenentzündung nach Grippe vor. Eklamptische und tetanische Anfälle deuteten auf Cerebrospinalmeningitis. Da sich aber dieselben Erscheinungen bei Tieren mit dem Urin erzielen liessen, so schloss sie Semmola aus. 24 Stunden später hörten die Krämpfe des Kranken auf und der Harn hatte keine giftige Wirkung mehr. Diagnose und Voraussage waren somit auf den richtigen Weg geleitet worden.

Im zweiten Falle handelte es sich um Septikämie im Gefolge von eitriger Zellgewebsentzündung. Durch die „biologische Analyse“ sah man am Tier dieselbe klinische Form auftreten. Der Zustand des Kranken besserte sich zunächst nicht, aber eine zum zweiten Male vorgenommene Analyse ergab dasselbe Bild in viel schwächerm Grade. Die infolgedessen günstig gestellte Voraussage bewahrheitete sich trotz des vorhandnen hochgradigen Kräfteverfalls (D. r. 93. 24).

Gonorrhoe.

Die von Neisser im Jahre 1879 entdeckten Gonokokken sind die Erreger des Trippers. Sie finden sich in jedem Falle, solange die Erkrankung besteht, und solange sie nachgewiesen werden, ist mit Sicherheit die ansteckende Krankheit noch vorhanden.

Der Gonococcus tritt paarweise auf. Die einzelnen Diplokokken stellen zwei durch einen kleinen Zwischenraum getrennte und hier abgeplattete Zellen dar, so dass das Kleinwesen die Form einer Semmel oder etwa einer Kaffeebohne hat. In bezeichnender Weise treten die Gonokokken haufenweise auf. Ihre Gruppen werden oft im Innern

*) Ueber die Darstellung von Toxinen aus dem Harn bei akuten Infektionskrankheiten s. Albu, B. 94. 8. Ueber ptomainartige Körper im Harn bei chronischen Krankheitsprozessen, Ewald und Jacobsohn. B. 94. 25.

von Leukocyten angetroffen; oft ist von den befallnen Zellen nichts oder kaum mehr, als eine Andeutung zu sehen, aber der Bakterienhaufen selbst hat noch deutlich die Form des Eiterkörperchens. Andre Male hat er, wie es scheint, die Grenze durchbrochen und sich eine Strecke weit zwischen die Leukocyten hinein ergossen. Endlich kommen ganz freie, ja selbst an andern Zellen liegende Gonokokken zu Gesicht. Auch dann lassen sie sich noch durch die typische Anordnung der Gruppe und durch die Gestalt der einzelnen Diplokokken erkennen. Photogramm Taf. V Nr. 28 zeigt Gonokokken in Leukocyten von einem frischen Falle, Nr. 29 eine Gonokokkengruppe an einer Epithelzelle liegend. Dieses Präparat stammt aus einem seit einigen Wochen bestandnen und behandelten, noch kräftigen Ausfluss der männlichen Harnröhre.

Zur Färbung nimmt man entweder Karbolfuchsin- oder Gentianaviolettlösung oder basisch Blau; Karbolfuchsin am besten verdünnt, etwa mit 2 Teilen destillierten Wassers. Zeigen sich trotz kurzer Einwirkung Umgebung und Untergrund noch zu stark rot, so verbessert man die Ueberfärbung durch flüchtige Eintauchung in verdünnten Alkohol, der alsbald mit Wasser abgespült wird.

Die mit basisch Blau gefärbten Präparate sind zwar sehr rein und distinkt gefärbt, aber die Gonokokken erscheinen nicht so gross, wie bei Fuchsinfärbung. Doppelfärbungen sind unnötig. Wer die Zeit dafür verwenden will, färbe mit Methylviolett und Eosin, oder Karbolmethylenblau (Abspülung in verdünnter Essigsäure) und wässriger Safraninlösung.

Bei der Gramschen Behandlung entfärben sich die Tripperkokken. Da sie sich in diesem Punkte von den meisten — freilich nicht von allen — in der Harnröhre oder in der Scheide vorkommenden Bakterien unterscheiden, empfahlen Steinschneider und Galewski ihre Anwendung in differentialdiagnostischer Hinsicht mit Gegenfärbung durch Vesuvin. Die nach Einwirkung der Jodjodkaliumlösung und des Alkohols entfärbten Gonokokken erscheinen dann braun unter den violetten andern Kleinwesen und Zellkernen.

Die Züchtung der Gonokokken gelingt auf den gewöhnlichen Nährboden nicht. Bumm*) erzielte sie zuerst durch Aussaat auf schräg erstarrtes menschliches Blutserum (über dessen Gewinnung s. S. 90). Aber die Entwicklung war nur eine kümmerliche und kam bald ins Stocken. Später ist es Bockhardt und besonders Wertheim (D. 91. 1351; J. 7. 99) gelungen, üppige, in vielen Generationen fortzüchtbare, virulente Kulturen durch Verwendung einer Mischung von 1 Teil flüssigen menschlichen Blutserums mit 2—3 Teilen Fleischwasserpeptonagars zu erzielen, wodurch gleichzeitig die Möglichkeit des Plattenverfahrens gegeben war. Bei Brutschrankwärme entwickeln sich auf den Platten fein gekörnte, mit buchtigen Rändern versehene, durchscheinende Ansiedlungen, in der Strichkultur ein zusammenhängender, weisslich grauer, feucht glänzender Rasen, der im weitern Wachstum vom Rande aus einen farblosen, ungemein zarten Belag vorschiebt und das Schwitzwasser am Grunde des Röhrchens überzieht. Abel empfahl

*) Der Mikroorganismus der gonorrhoischen Schleimhauterkrankung „Gonococcus Neisser". Wiesbaden bei Bergmann. 1885.

wegen der Schwierigkeit, jederzeit Blutserum aus Plazenten zu bekommen, die Aussaat auf Peptonagar, das dicht mit menschlichem Blute (z. B. aus einer kleinen Schnittwunde) bestrichen ist (D. 93. 265). Menge benützte zur Züchtung mit Erfolg den Inhalt von Ovarialcysten und Hydrosalpinx, der dem Nähragar zugemischt wurde (Cr. 14. 675).

Die Anlegung von Kulturen der Tripperkokken gelingt am besten aus möglichst reinem Material. Immer ist es erforderlich, neben den Blutserum-Agarschälchen in der gleichen Weise auf gewöhnlichen Nähragar zur Kontrolle auszusäen, um festzustellen, dass die auf Blutagar gewachsnen, verdächtigen Kolonien auf gewöhnlichem Nähragar nicht angehen. Steht menschliches Blutserum augenblicklich nicht zur Verfügung, so giesst man gewöhnlichen Nähragar in Doppelschälchen und bestreicht nach der Erstarrung einen abgegrenzten Bezirk, etwa die Hälfte der Oberfläche mit keimfreiem, frischem Blute. Die blutfreien Stellen werden zuerst geimpft.

Beim Tierversuch hatte Wertheim insofern Ergebnisse, als nach Einbringung von Stückchen des Blutserumagars mit Gonokokkenansiedlungen in die Bauchhöhle von Tieren eine eitrige Bauchfellentzündung (ohne tödlichen Ausgang) entstand. Am meisten erwiesen sich Mäuse als geeignet, demnächst Meerschweinchen, weniger gut Kaninchen und Ratten, Hunde fast gar nicht. Für die Tripperdiagnose kommt der Tierversuch so gut wie nicht in Betracht.

Eitrige Harnröhrenentzündungen, die nicht durch Gonokokken verursacht sind, kommen vor, wurden jedoch selten beobachtet. Bei mehreren Fällen von pseudogonorrhoischer Urethritis fand Bockhardt isoliert oder in Gruppen, meist frei, selten in Zellen liegende kleine Kokken, die beim Menschen wiederum Harnröhrenkatarrh erzeugten, bei andern Fällen andre Kokken, die nicht mit Sicherheit als die Ursache der Krankheit anzusehen waren. Bei einer ähnlichen Erkrankung ohne Gonokokken sah Neisser innerhalb wie ausserhalb der Zellen kolossale Mengen feinster, zu einem scheinbaren Stäbchen vereinigter Diplokokken, die der Behandlung verhältnismässig rasch wichen. Derartige Befunde werden nicht mehr so vereinzelt bleiben, wenn nur die einwandfreie und sorgsame bakteriologische Untersuchung nicht bloss von einigen wenigen Forschern allein geübt werden wird.

Die Diagnose auf Tripper wird gestellt, wenn sich die Gonokokken in der oben beschriebnen bezeichnenden Form vorfinden. Sie kann unter Umständen sehr schwierig werden und die ganze Unterscheidungskunst eines geübten Untersuchers herausfordern.

Am leichtesten gelingt der Nachweis im frischen Harnröhrenausfluss. Ist die eitrige Absonderung durch sanften Druck bis vor die Harnröhrenmündung befördert, so wird mit einer sterilen Platinöse ein Teilchen zum Ausstrich auf Objektträger entnommen; das getrocknete Präparat wird nach den gewöhnlichen Regeln behandelt.

Die Züchtung kann man anschliessen, nötig ist sie in einfach gelagerten Fällen nicht. Besteht aber ein Zweifel im mikroskopischen Bilde, so soll man sie nicht unterlassen und dabei in der oben angegebnen Weise zweierlei Nährboden benützen, ferner ist die Gramsche Behandlung heranzuziehen.

Man wundert sich manchmal, wie wenig Eiterzellen bei einem

dicken eitrigen Ausfluss gonokokkenhaltig gefunden werden. „Die Zahl der mikroskopisch nachgewiesnen Gonokokken entspricht nicht immer dem Grade der Eiterung. Die letztere stellt die Reaktion der Schleimhaut gegenüber den Gonokokken dar. Dass diese aber nicht immer die gleiche ist, geht daraus hervor, dass jede spätere Infektion trotz sehr zahlreicher Gonokokken mit viel geringerem Ausfluss einhergeht, als die erste“ (Neisser Cr. 6. 249). Mitunter dauert es eine ganze Weile, bis ein typisches, mit Gonokokken besetztes Eiterkörperchen ins Gesichtsfeld kommt. Besonders andauerndes und fleissiges Suchen ist geboten, wenn es sich um die Untersuchung des Sekretes chronischer Harnröhrenkatarrhe oder um die Erbringung des Urteils über erfolgte Heilung handelt. Oft muss erst eine Reizung vorausgehen, damit die Gonokokken, die etwa in spärlicher Zahl in den Falten und Fältchen der Schleimhaut verborgen sind, aufgestört werden. „Wenn man sehr sorgfältig und lange genug, vielleicht auch mit Hilfe der künstlichen Irritation untersucht, so kann man schliesslich in jedem Falle die Differentialdiagnose stellen“ (Neisser).

Unter allen Umständen muss der frische Harn der fraglichen Kranken besichtigt werden. Die darin vorhandnen Schleimflöckchen, oder wenn solche nicht zu sehen oder zu fischen sind, der durch Ausschleudern gewonnene Niederschlag, werden in der S. 426 angegebnen Weise untersucht. Schwierig oder vereitelt kann diese Untersuchung werden, wenn gleichzeitig ein Blasenkatarrh besteht, und bakterientrüber Urin entleert wird. Da die Gonokokken Cystitis nicht bedingen, so sind da immer massenhaft andre Bakterien vorhanden.

Nach Jadasohn lässt sich die von ihm für die Erkennung der Urethritis posterior empfohlne Ausspülung des vordern Teiles der Harnröhre für den Nachweis der Gonokokken gut verwerten, da die gonokokkenhaltigen unter den gonokokkenfreien Fäden bei einzelnen Fällen von Urethritis anterior leicht übersehen werden können (Cr. 6. 250).

Einen absolut sichern Beweis gegen das Vorhandensein einer ansteckenden Eigenschaft der verdächtigen Absonderung z. B. von einem chronisch Kranken hat man durch den negativen Ausfall vereinzelter Untersuchungen nicht, aber die Sicherheit wird mit der steigenden Menge der bei dem einzelnen Falle vorgenommenen Untersuchungen immer grösser.

Sehr misslich kann die Entscheidung bei der Untersuchung des Sekretes von Frauen, namentlich von Prostituierten werden. Aber der Geübte wird durch die mikroskopische Untersuchung allein in vielen Fällen die richtige Diagnose stellen, die bei der einfachen Besichtigung oft nicht möglich gewesen wäre. Darum ist die Forderung Neissers, dass das Mikroskop zum unentbehrlichen Instrumentarium bei der Sittenkontrolle diene, von so grosser Wichtigkeit. In Breslau ist das praktisch bewiesen worden: 40 % der bis dahin gesund geltenden Prostituierten fanden sich mit Tripper behaftet und eine daraufhin durchgeführte regelmässige mikroskopische Untersuchung in Abständen von höchstens zwei Monaten hatte eine Abnahme der Tripperkranken der Garnisonlazarette um fast die Hälfte zur Folge (Philippson D. 93. 874).

Die Gonokokken werden ausser in der weiblichen Harnröhrenmündung in der Absonderung der Scheide und der Gebärmutter

gefunden. Wertheim wies ihr Vorkommen bei Pyosalpinx, in Eierstockabscessen, selbst im peritonitischen Exsudat (auch durch die Kultur) nach, ein Zeichen, wie weit sie in den Körper einzudringen vermögen. Allerdings lassen sich die Gonokokken nicht jedesmal dabei nachweisen, oft sind nur die bekannten Eitererreger zu finden, oder Gonokokken und andre Bakterienarten sind gleichzeitig im Entzündungsprodukte vorhanden. Grade darum aber ist die bakteriologische Durchforschung so sehr wichtig; denn sie gibt die Richtschnur für die einzuschlagende Therapie.

Die mikroskopische Untersuchung auf Gonokokken verschafft, wie keine andre, Auskunft über die Frage, ob ein behandelter Tripper geheilt ist oder nicht. Viele Fälle, die früher unter Uebersehung der scheinbar unschuldigen Flöckchen aus der Behandlung entlassen wurden, werden unter der bessern Einsicht einer fortdauernden Behandlung bis zum Verschwinden der Gonokokken unterzogen. Andrerseits können jene Flöckchen im Harn, wenn sie einer genauen Beobachtung nicht entgingen, zu berechtigten Zweifeln Veranlassung geben, ob ihr Träger nicht noch mit der ansteckenden Krankheit behaftet sei. Eine recht gründliche und häufige Mikroskopierung, allenfalls unter Hinzunahme des Züchtungsversuches, kann die Harmlosigkeit dieses Ueberbleibsels einer frühern spezifischen Entzündung darthun.

Natürlich bedarf es, sagt Neisser (D. 93. 723), zur Diagnose geheilt ebensolcher Vorsicht und Skepsis negativen Befunden gegenüber, wie in dieser ganzen Angelegenheit überhaupt; man wird auch oft genug sich täuschen und Menschen für gesund erklären, die es noch nicht sind. Aber diese Fehlerquelle wird bei der mikroskopischen Methode hundertmal geringer sein, als bei alleiniger klinischer Beurteilung des Erfolgs der Behandlung.

Immer häufiger werden die Beobachtungen über das Vorhandensein der Gonokokken bei den verschiedensten Krankheiten, die sich dadurch sicher als Folgeerscheinungen des Trippers herausstellen, was früher vielfach bezweifelt wurde. Eiteransammlungen in der Umgebung der Harn- und Geschlechtsorgane, Gelenkentzündungen mit serös-schleimigen oder eitrigen Ergüssen, Entzündungen von Sehnenscheiden und Schleimbeuteln hat man erwiesnermassen unter dem Einflusse der Gonokokken entstehen sehen.

Strittiger ist die Frage, ob Herzerkrankungen, speziell Endokarditiden durch diese Parasiten erzeugt werden können. Leyden beantwortete sie im bejahenden Sinne, weil sich bei einem tödlich verlaufnen Falle in den endokarditischen Auflagerungen Diplokokken von der Form der Gonokokken, freilich kleiner als diese, vorgefunden hatten; sie entfärbten sich bei der Gramschen Behandlung und bei der Einwirkung von Alkohol leicht und fanden sich, abgesehen von den Pilzrasen am Rande der Auflagerungen, nur in den Zellen (D. 93. 909). Verneinend hingegen sprach sich Wilms aus, der in einem ähnlichen Falle zwar ebenfalls semmelförmige, in Zellen liegende und nach Gram entfärbbare Doppelkokken sah, sie aber nicht als Gonokokken deuten wollte. Da der Gonococcus, so legte er dar, überhaupt keine ulcerösen Vorgänge zu erzeugen vermag, so ist ihm die Fähigkeit abzusprechen, die

tief greifende Zerstörung einer bösartigen Endokarditis hervorzurufen; nur auf wirklichen Schleimhäuten ist er imstande, Schwellung und Auswanderung von Leukocyten hervorzurufen. Die Komplikationen beim Tripper beruhen, ausser bei den falschen Abscessen, auf nachträglicher Einwanderung andrer Kokken von der Harnröhre aus. Solche falsche Abscesse sind die periurethralen, die der Bartholinschen Drüsen und der Eileiter. Im Gegensatze zu den durch Trauben- und Kettenkokken hervorgerufnen Abscessen hat bei ihnen keine Einschmelzung des Gewebes statt, sondern nur eine Ansammlung von Leukocyten in einem vorgebildeten Hohlraume. Die periurethralen Abscesse sind demnach Littresche Drüsen, deren Ausführungsgänge durch Schwellung der Schleimhaut und Abstossung des Epithels verstopft sind, worauf sie durch die übermässige Ansammlung von weissen Blutkörperchen ausgedehnt wurden (M. 93. 745).

Eine endgültige Entscheidung wird in ähnlichen Fällen nur durch die Anwendung des Kulturverfahrens zu erbringen sein, das hier die mikroskopischen Befunde notwendig ergänzen muss. Den erforderlichen Nährboden kann man sich im Bedarfsfalle durch Ausstreichung einiger steril aufgefangner Bluttröpfchen auf Peptonagar ohne Mühe verschaffen. Kontrollaussaaten auf gewöhnlichen Nähragar dürfen nicht unterlassen werden (s. S. 435).

Gonokokken sind die häufigste Ursache der Augenblennorrhöe der Neugebornen, ja selbst im Sekrete des offenbar gonorrhoisch erkrankten Mundes sind sie gefunden worden (Rosinski D. 91. 569; Dohrn D. 91. 958).

Auch die Vulvovaginitis kleiner Mädchen hat sich als durch Gonokokken bedingt herausgestellt. Hier hat der mikroskopisch-diagnostische Nachweis nicht selten gerichtlich-medizinisches Interesse. Kratter, der zuerst darauf hingewiesen hat, hebt hervor, man solle sich nicht durch wiederholten Misserfolg von der Untersuchung abschrecken lassen; in einem Falle liessen sich erst nach Durchmusterung vieler im Laufe mehrerer Tage angefertigter Präparate und nach stundenlangem Suchen unzweifelhafte Tripperbakterien auffinden (B. 90. 960).

Kratter stellte ferner fest, dass in den auf Wäsche angetrockneten Tripperflecken die Gonokokken sehr lange Zeit färbbar blieben und nach mehr als ½ Jahre noch nachweisbar waren. Zur mikroskopischen Untersuchung werden nicht ganz oberflächlich gelegne Schüppchen abgeschabt und in Wasser quellen gelassen, oder eitergetränkte Fäden des Zeuges mazeriert und ausgepresst, und die davon angefertigten Ausstrichpräparate in der bekannten Weise weiter behandelt.

Absonderungen der weiblichen Geschlechtsorgane.

Die Absonderung der Scheide hat im normalen Zustand eine saure Reaktion (Bockhardt u. a.); Döderlein*) hat darin neben Soor-

---

*) Das Scheidensekret und seine Bedeutung für das Puerperalfieber. Leipzig bei E. Besold, 1892; mit Photogrammen.

und Hefepilzen vorwiegend charakteristische, nicht sehr leicht züchtbare, zum Wachstum viel Feuchtigkeit beanspruchende Bazillen mit Säurebildungsvermögen nachgewiesen, die auf künstlichen Nährboden imstande waren, die gelben Traubenkokken in ihrer Entwicklung zu verhindern und selbst zu vernichten. Die alkalische Absonderung ist nach D. krankhaft und enthält eine Unmasse andrer Kleinwesen, darunter Eiterkokken.

Zur Gewinnung der Scheidenabsonderung soll die Schwangere auf dem Untersuchungstuhl in Steinschnittlage Platz nehmen. Nach Abwaschung der äussern Geschlechtsteile mit 1 ‰ Sublimatlösung (unter Vermeidung ihres Einfliessens in die Scheide) wird ein kurzes Glasröhrenspekulum, deren mehrere verschiedner Weite sterilisiert vorrätig sein müssen, in die Scheide eingeführt nnd zunächst die Menge, Farbe, Konsistenz u. s. w. des der Schleimhaut anhaftenden Sekretes beachtet. Mit geglühtem Platinspatel werden dann mehrere Proben entnommen, die teils zu Züchtungszwecken auf die gebräuchlichen Nährboden gebracht oder mit ihnen vermischt werden, teils zur mikroskopischen Untersuchung auf Objektträger oder Deckgläser dünn ausgestrichen und endlich mit empfindlichem Lakmuspapier auf ihre Reaktion geprüft werden.

Die durch solche praktisch wichtige Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse gelangen in der Leipziger Frauenklinik dadurch zu zweckentsprechender Verwertung, dass Schwangere mit richtiger und mit krankhafter Absonderung getrennt werden; dazu genügt die Besichtigung mit blossem Auge und die Prüfung der Reaktion zumeist; in zweifelhaften Fällen entscheidet die mikroskopische Untersuchung eines gefärbten Ausstriches. Schwangere mit krankhafter Absonderung werden nur nach erfolgreicher örtlicher Behandlung zu Touchierübungen herangezogen. Die Behandlung besteht in Spülungen mit 1 %iger Milchsäure, um den Krankheitserregern die Daseinsbedingungen zu entziehen.

Bei der Entnahme des Wochenflusses zu bakteriologischen Untersuchungen verfährt man, nach Döderlein, v. Franqué (Zeitschr. f. Geb. u. Gyn. 25. Bd.) u. a. also:

Die äussern Schamteile der auf dem Untersuchungstuhl gelagerten Wöchnerin werden mit Sublimatlösung, die Scheide wird mit schwacher Karbol- oder Lysollösung gespült und dabei mechanisch gereinigt. Nach Einführung eines Mutterspiegels wird der Scheidenteil der Gebärmutter mit einer keimfreien Kugelzange gehalten, die Umgebung und der Cervikalkanal selbst mit sterilisierter Watte, mit Alkohol, Sublimatlösung und keimfreiem Wasser gereinigt, endlich zur Entnahme ein geeignetes, mit mehreren zusammen sterilisiertes Glasröhrchen von etwa 25 cm Länge, 3 mm Durchmesser und 1 mm im Lichten bis zu seiner 6 cm von dem einen Ende beginnenden (ähnlich wie bei einer Uterussonde verlaufenden) Krümmung vorsichtig in den Muttermund eingeführt. Nach Ansaugung von Absonderung wird es herausgezogen, mit beiden Enden in heisses Siegellack getaucht und sogleich ins Laboratorium verbracht. Hier wird der Lack mit geglühten Pinzetten entfernt oder mit geglühter Nadel durchstochen, oder das Röhrchen entzwei gebrochen, und sein Inhalt bakteriologisch untersucht (Färbung, Züchtung, Tierversuch).

Das Uterussekret von Wöchnerinnen mit Temperaturen unter 38° wird zumeist keimfrei gefunden. Bei Wochenbettfiebern begegnet man verschiednen Bakterien, besonders häufig Kettenkokken.

weniger oft Traubenkokken, Kolibazillen, Gonokokken u. a. Die schweren Fälle sind meist Septikämien, durch Eitererreger, in erster Linie durch Streptokokken bedingt. In Leichen, die bei der Eröffnung ausser Milzvergrösserung und entzündlichen Erscheinungen der Niere und andrer innrer Organe keine hervorstechenden Befunde erkennen lassen, findet man bei der Aussaat z. B. eines Milzstückchens auf Nähragar gewöhnlich diese Kettenkokken in grossen Mengen; in gefärbten Schnitten aus der Gebärmutter und den andern Organen kann man ihre Einwanderung in den Körper verfolgen.

Im übrigen gestaltet sich die bakteriologisch-diagnostische Untersuchung, die sich gegebnen Falls auf besondre Krankheitserreger, wie Gonokokken u. s. w. erstrecken soll, nach den früher dargelegten Methoden. Beim Tetanus puerperalis ist sie zur Bestätigung des klinischen Bildes nach den S. 448 anzugebenden Regeln auszuführen. Jedoch gelingen Tierversuche mit dem Sekrete nicht immer, weil andre Krankheitserreger vorhanden sein können, die den Tod des Tieres rascher herbeiführen, als der Tetanusbazillus. Heyse gelang es, einen Erfolg mit der Absonderung zu erzielen, nachdem sie an sterilisierter Watte angetrocknet einen Tag lang gelegen hatte. Die für die Mäuse verderblichen andersartigen Keime hatten dadurch soviel an ihrer Wirkung eingebüsst, dass der Tetanusbacillus in die Erscheinung zu treten vermochte (B. 93. 579).

Bei Tympania uteri wies Gebhardt in 6 Fällen Bacterium coli commune nach (Mr. 93. 556).

Nachweis von Kleinwesen in der Umgebung des Menschen.

Luft.

Zur Auffindung bestimmter **Bakterienarten**, worunter die Krankheitserreger unser Augenmerk am meisten fesseln, genügt es, zu verschiednen Zeiten mehrere mit Nährgelatine oder -Agar begossne Platten oder Schalen für eine bestimmte Frist, etwa 10 Minuten lang, der Luft auszusetzen. Man stellt die Platten entweder ruhig an geeigneten Orten auf oder bewegt sie mit der Hand in der Luft oder trägt sie durchs Zimmer. Mit der Verbesserung der für die Bestimmung der Keime in der Luft dienenden Apparate kam diese einfachste Art der Untersuchung mehr und mehr ausser Gebrauch, doch griff man in neuerer Zeit wiederholt auf sie zurück. So haben Symmes in Berliner, Hägler in Baseler chirurgischen Krankensälen damit die Möglichkeit zu ermitteln gesucht, ob der Luftstaub beim aseptischen Verfahren für die Wunde Gefahr berge. Die Frage entschied sich ungleich: in Berlin wurden Eiterreger in der Luft der Krankensäle vermisst, in Basel fanden sich sowohl Trauben-, als Kettenkokken darin.

Je nach der Art der Keime, die man vermutet oder sucht, wird sich das Verfahren im einzelnen Falle verschieden gestalten müssen. Da z. B. Kettenkokken nur langsam auf der Gelatine fortkommen und

ihr Standort bis zu dem Zeitpunkt, wo eine Erkennung ermöglicht ist, längst von andern Kleinwesen, vornehmlich von Schimmelpilzen, bedroht ist, wird es sich für solche Zwecke empfehlen, den Agarplatten den Vorzug zu geben, worauf die Kettenkokken bei Brutschrankwärme nach 24 Stunden unschwer erkennbare, bezeichnende Ansiedelungen (Phot. Taf. I Nr. 5) bilden, während viele Saprophyten, Schimmelpilze u. dgl. bei Körperwärme eine Verzögerung des Wachstums erleiden. Man setze die dem Versuch dienenden Agarschalen in nicht zu geringer Zahl, dafür eher etwas kürzere Zeit der Luft aus.

Wie so oft, gilt auch bei derartigen Untersuchungen die Regel der Individualisierung. Die Anordnung, die Wahl des Nährbodens muss den gegebnen Verhältnissen angepasst sein. In diesem Sinne glückte es Cornet, bei seinen Forschungen über das Vorkommen der **Tuberkelbazillen** ausserhalb des Körpers, zu praktisch wichtigen, jetzt vielfach, aber immer noch zu wenig, verwerteten Ergebnissen zu gelangen. Wie manche vor ihm hatten sich vergeblich bemüht, durch Ansaugung von Luft aus Krankensälen und Ueberleitung über Kulturplatten Erfolge zu erzielen!

Dixon will zwar mit einer lediglich für die Mikroskopierung bestimmten Anordnung Glück gehabt und Tuberkelbazillen im Bodenstaub eines Eisenbahnwagens in Philadelphia aufgefangen haben. Er bliess die Luft mit einem Ballon durch einen eigentümlich eingerichteten, cylinderförmigen Apparat. Vor die Durchströmungsöffnung wurden nacheinander sieben, in getrennten Fächern liegende, mit einer klebrigen Masse (Gummi, Glyzerin) überzogne Deckgläschen befördert und später gefärbt der mikroskopischen Durchmusterung unterzogen (The therapeutic Gaz. 90. 308).

Cornet hat zuerst die lebenden, virulenten Tuberkelbazillen unter Zuhilfenahme des Tierversuchs in der Umgebung solcher Schwindsüchtiger nachgewiesen, die ihren Auswurf sorglos auf den Boden oder ins Taschentuch entleerten. Dieser Gelehrte nahm den staubförmigen Niederschlag aus der Luft, der sich im Laufe längrer Zeit freiwillig an Stellen abgesetzt hatte, wohin weder der Auswurf hatte kommen können, noch eine menschliche Hand gerührt haben mochte, von hoch oder versteckt gelegnen Gesimsen, Panelen, Wänden u. dgl. m. (Z. 5. 191).

Der Staub wurde entweder mit geglühten Spateln abgekratzt und in sterilisierten Doppelschalen an die Arbeitstätte verbracht, oder mit einem Schwämmchen abgerieben. Dieses etwa haselnussgrosse, feinporige, vorher in Wasser ausgekochte und im Dampf sterilisierte Schwämmchen wurde, vor jedweder Verunreinigung geschützt, feucht an den Ort der Entnahme mitgenommen, hier in eine vorher geglühte Pinzette geklemmt, zur Abreibung der Wand, einer Brettleiste u. s. w. verwendet und wieder verwahrt. Einer Berechnung zufolge gelangte durch die Abreibung von 1 qm Wand allermindestens der Bakterienniederschlag von 51 cbm Luft zur Untersuchung.

Im Laboratorium wurde dann das mit Staub beladne Schwämmchen mit der sterilisierten Pinzette in etwa 15 ccm Bouillon ausgedrückt. Grössere zusammenhaftende Staubmengen, namentlich die mit dem Platinspatel gesammelten, mussten erst gleichmässig darin verteilt werden. Das gelang am besten mit Hilfe eines eigens angefertigten, leicht ausglühbaren Platinrollers (Fig. 128).

Ausser zur mikroskopischen Untersuchung benützte Cornet die Staubaufschwemmung jedesmal zum Tierversuch: Meerschweinchen bekamen davon je 5 ccm in die Bauchhöhle gespritzt. Ein Teil der Tiere erlag Infektionen durch andre, im Staub enthaltne Bakterien. Ein andrer, grosser Teil aber blieb zur einwandfreien Lösung der Frage, wo die Tuberkelbazillen ausserhalb des Körpers zu finden seien; sie beantwortete sich wie vorhin angedeutet dahin, dass diese gefährlichen Krankheitserreger durchaus nicht überall vorkommen, sondern nur dort, wo tuberkelbazillenhaltiger Auswurf leichtsinnig an Orte und Gegenstände entleert wird.

Fig. 128.



In dieser Hinsicht lässt also die Untersuchung des Staubs unmittelbare Rückschlüsse auf die Art der Verunreinigung der Luft zu.

Eine derartige Anordnung, wie Cornet sie traf, ist aber nur beim Suchen nach Kleinwesen angängig, die die Austrocknung eine Zeitlang ertragen; wie es bei den Tuberkelbazillen der Fall ist. Sie bleiben an trocknen und dunkeln Orten sehr lange entwicklungsfähig und virulent; Cornet fand sie noch 7 Monate nach dem Tode eines Schwindsüchtigen im Staub dessen ehemaliger Wohnung.

Die **Mengenbestimmung** der Keime in der Luft soll in erster Linie darüber Aufschluss geben, wie viel entwicklungsfähige Kleinwesen in einem bestimmten Raumteil vorhanden sind; in zweiter Linie können die dazu benützten Kulturplatten bis zu einem gewissen Grade einen Einblick über die Art der in der Luft vorhandnen Mikrorganismen gestatten.

Wenn wir von entwicklungsfähigen Keimen sprechen, so denken wir dabei an solche, die in und auf den uns zur Verfügung stehenden Nährmitteln fortkommen, ja man hatte eine Zeitlang überhaupt die auf Nährgelatine wachsenden Kleinwesen im Auge. Wollen wir aber einen einigermassen genauern Einblick in die Flora der Luft erhalten, so müssen wir nicht bloss in Gelatine, sondern auch auf Agar bei Körperwärme züchten. Zahlenbestimmungen werden sich dabei immer in grossen Fehlergrenzen bewegen. Weder die Gelatineplatte für sich, noch die Agarschale allein lässt die wirkliche Menge der eingebrachten Keimzahl erkennen. Eine einfache Zusammenzählung und Berechnung von Mittelwerten aus den mit beiden Nährboden gefundnen Zahlen ist unzulässig; sie müssen stets getrennt behandelt und beurteilt werden. Strenge Anaërobier, die, dem Boden entstammt, sich in der Luft befinden, gehen dem gewöhnlichen Nachweise verloren. Ferner sind wir in Analogie mit anderweitigen Befunden, z. B. im Wasser, im Verdauungskanal der Menschen und Tiere, zu der Annahme gezwungen, dass es so manche Kleinwesen in der Luft gibt, die sich mit unsern Hilfsmitteln nicht züchten lassen. Endlich ist noch des Umstands zu

gedenken, dass die Keime sehr oft nicht einzeln in der Luft vorhanden sind, sondern zu kleinern oder grössern, gleichartigen und ungleichartigen Verbänden vereinigt schweben (Schimmelpilzsporen) oder an Stäubchen haften (Bakterien u. a. Kleinwesen) und sich so zum Teil einer Zählung auch nach dem Auswachsen zu Kolonien entziehen können.

Aller dieser Punkte müssen wir uns bei der Mengenbestimmung bewusst sein. Wenn wir aber auch ein vollkommnes Bild über die Zahl und Art der Luftkeime nicht erhalten können, so sind wir doch in der Lage, mit Hülfe eines möglichst einwandfreien Verfahrens unter einander vergleichbare Ergebnisse aus einer Reihe von Untersuchungen, und so einen Einblick in die thatsächlich bestehenden Verhältnisse zu gewinnen.

In gewisser Beziehung passt hier ein Vergleich mit der chemischen Bestimmung des Kohlensäuregehalts der Luft. Wir benützen sie zur Erkennung der Luftverschlechterung und sehen eine Luft, deren Gehalt ein bestimmtes Volumen dieses Gases (1 ‰) überschreitet, als ungesund an. Wenngleich nun eine solche Kohlensäuremenge an sich keinen nachteiligen Einfluss auf unser Wohlbefinden hat, ist sie doch ein Massstab für gewisse andre, bis jetzt chemisch nicht fassbare, gesundheitschädliche Stoffe, die sich wahrscheinlich im ähnlichen Verhältnisse, wie die Kohlensäure in der Luft anhäufen. In analoger Weise können wir auch aus dem nachgewiesnen Bakteriengehalte der Luft, für den wir einen ähnlichen Grenzwert allerdings nicht besitzen, auf ihre Verunreinigung schliessen. Auch lassen zu verschiednen Zeiten und an verschiednen Orten gefundne Werte bei sonst derselben Versuchanordnung ein vergleichendes Urteil innerhalb gewisser Grenzen zu.

Verfahren zur Mengenbestimmung der Luftkeime

sind in nicht geringer Zahl angegeben worden, stehen aber hinsichtlich ihres Werts durchaus nicht auf der nämlichen Stufe. Nur die brauchbaren sollen hier Berücksichtigung finden. Wer sich für alle interessiert, findet in der kritischen Literaturübersicht von Petri (Z. 3. 1), ferner von Welz (Z. 11. 121), sowie in Hueppes Methoden der Bakterienforschung das Gewünschte.

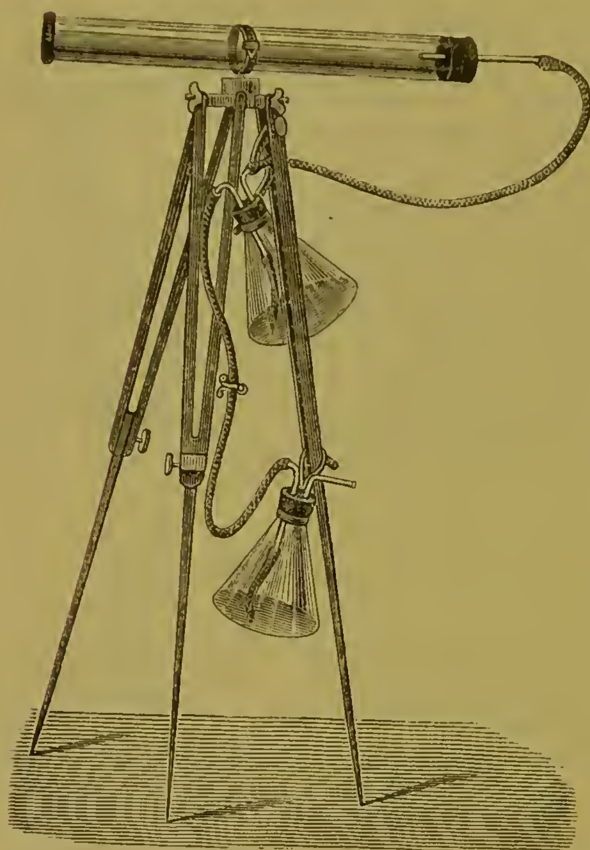
Allgemeine Bedingungen für die Gewinnung möglichst zuverlässiger Ergebnisse sind: Ansaugung genügender Mengen von Luft unter Vermeidung zu rascher Strömung; Verwendung geeigneter und zwar fester Nährboden in einer Form, die gleichzeitig eine Artbestimmung zulässt; nicht zu kurze Beobachtung der angelegten, bei geeigneter Wärme und geschützt vor anderweitigen Verunreinigungen aufbewahrten Kulturen.

Zunächst handelt es sich um die Beschaffung eines geeigneten Saugapparates und um die Möglichkeit, die geförderte Luftmenge zu messen.

Beide Punkte sind vereinigt in der Hesseschen Anordnung von zwei abwechselnd hoch und tief gestellten, genügend grossen, etwa 5 Liter haltenden Saugflaschen. Sie sind mit doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen, durch die in bekannter Anordnung je ein kurzes und ein verlängertes Glasrohr führt. Die beiden langen Rohre

sind durch einen Gummischlauch miteinander verbunden, in dessen Verlauf eine Glasröhre mit Hahn oder ein Schraubenquetschhahn sitzt, der die Regelung der Strömungsgeschwindigkeit des Wassers ermöglicht. Das Wasser befindet sich in der ersten, oben hängenden Flasche. Ein einmaliges Saugen lässt den Inhalt in die $^1/_2$ bis $^3/_4$ m tiefer angebrachte Flasche fliessen. Ist die erste Flasche mit dem grossen, innen mit erstarrter Nährgelatine ausgekleideten Untersuchungsrohre in Verbindung gesetzt, so wird die Luft durch dieses in der nämlichen Menge und mit derselben Geschwindigkeit gesaugt, als unten das Wasser abläuft; mehr als 1 Liter soll binnen 2 Minuten nicht durchgesaugt werden. Ist die zweite Flasche beinahe voll, so wird der Standort gewechselt; der Strom muss in der Zwischenzeit unterbrochen werden, damit die Anschaltung des Luftuntersuchungapparates an die volle Flasche stattfinden kann. Im übrigen findet sich in den meisten Preisverzeichnissen der Lieferanten eine kurze Anleitung für den Gebrauch. Das in Fig. 129 angegebne Gestell ist nicht unbedingt nötig, ein gewöhnliches Stativ mit Klemmen thuts auch. Da ferner Flaschen und sonstiges Zubehör in jedem vollkommner ausgestatteten Laboratorium vorhanden sind, so bedarf man bloss einer hitzebeständigen Glasröhre von 70 cm Länge und 3,5 cm Durchmesser mit einem passenden, einfach durchbohrten Gummistopfen zum Verschluss der einen, und zwei geeignet grosser Gummikappen, von denen die eine einen zentralen runden Ausschnitt haben muss, zum Verschluss der andern Seite. Die aussen angelegte, nicht durchlochte Gummikappe wird während der Dauer des Versuchs abgenommen.

Fig. 129.



Unbequem ist die Keimfreimachung des langen Rohrs. Mit besondrer Rücksicht darauf gab man früher den Dampfentwicklern einen hohen, filzumkleideten Cylinder. Bald aber kehrte man wieder zu der ursprünglichen Höhe von 32—35 cm zurück, weil nur darin die Siedehitze des Dampfes im ganzen Innenraum gewährleistet ist. Bei den hohen Cylindern bedarf man einer ausserordentlich starken Feurung und muss statt Wasser Kochsalzlösung verwenden. Da solche Apparate selten zur Verfügung stehen, kann man sich durch einen passenden, an der Verbindungstelle gut gedichteten, cylinderförmigen und filzbekleideten Aufsatz von weitern 35—40 cm Länge helfen, worauf der Deckel zu sitzen kommt, oder man macht das Rohr durch gründliche Reinigung, Spülung mit Schwefelsäure, sterilisiertem Wasser, Alkohol

und Aether keimfrei und trocken, und setzt alsbald die im Dampf sterilisierten Gummiverschlüsse auf. Dann füllt man die nötige Menge Nährgelatine ein und breitet sie unter dem Strahl der Wasserleitung an der Innenwand aus, ähnlich wie man bei der Anlegung der Rollplatten in Reagensgläsern (S. 111) verfährt.

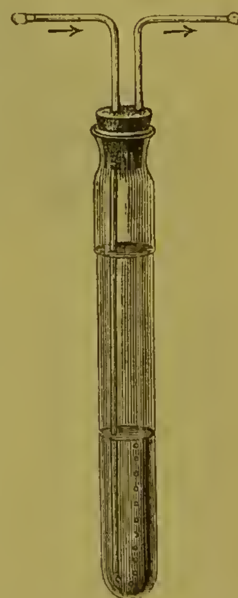
Bei andern Apparaten ist die Saugvorrichtung durch eine Wasserstrahl- oder Handluftpumpe vorgesehen. Es ist entweder eine Gasuhr zum Anzeigen der geförderten Luftmenge erforderlich, oder man muss, wie dies bei Handpumpen (Petri, Fig. 131) möglich, die Leistungsgrösse der Pumpe vorher geaicht haben. Das sind aber umständliche und kostspielige Dinge. Nur Institute, denen öfters solche Untersuchungen zukommen, oder die auf die Kosten nicht zu achten brauchen, werden sie sich anschaffen. Für gewöhnlich gehören Mengenbestimmungen der Luftkeime zu den selten herantretenden Aufgaben. Es wird sich dann auch meist um die Gewinnung von Ergebnissen handeln, die mit einfachern Mitteln zu erreichen sind.

Was nun die Luftuntersuchungsapparate selbst betrifft, so sind sie verschieden, je nachdem eins der folgenden Verfahren angewendet wird.

1. Die Durchsaugung der Luft durch eine bestimmte Menge keimfreier Flüssigkeit mit alsbald folgender Aussaat eines abgemessnen Bruchteils auf Gelatine- oder Agarplatten. Ich erwähne sie, weil sie auch noch in den letzten Jahren zur Verwendung kam, empfehle sie aber nicht, da ich

2. die Einleitung der Luft in verflüssigte Gelatine oder Agarnährlösung für besser erachte. Man kann auch grössere Mengen nehmen und abgemessne Bruchteile mit frischen Nährboden zur Plattenaussaat verarbeiten. Diese gute und einfache Methode wurde gleichzeitig von v. Sehlen und Hueppe angegeben; dieser hat dazu ein grösseres Reagensglas mit luftdicht aufgeschliffner Glaskappe genommen, die oben offen ist; in diese Oeffnung kommt ein Kautschukstopfen, durch den ein langes und ein kurzes Glasrohr zur Durchleitung der Luft durch die im Reagensglase befindliche Gelatine führt (Fig. 130). Vorm Gebrauch ist das äussere Ende jedes Rohrs mit Watte verschlossen und das Ganze im Dampf sterilisiert worden. Nach der Durchleitung wird der Helm abgenommen und der Inhalt auf ein Platte (Doppelschale) gegossen oder nach Aufsetzung eines sterilisierten Wattepfropfens eine Rollplatte hergestellt. Noch einfacher liesse sich die Sache gestalten, wenn man ähnlich der C. Fraenkelschen Anordnung für Anaërobenzüchtung (S. 139) das Gelatineglas unmittelbar mit dem Kautschukstopfen verschliessen würde (ohne nach Beendigung des Versuchs die durchführende Röhre abzuschmelzen).

Fig. 130.

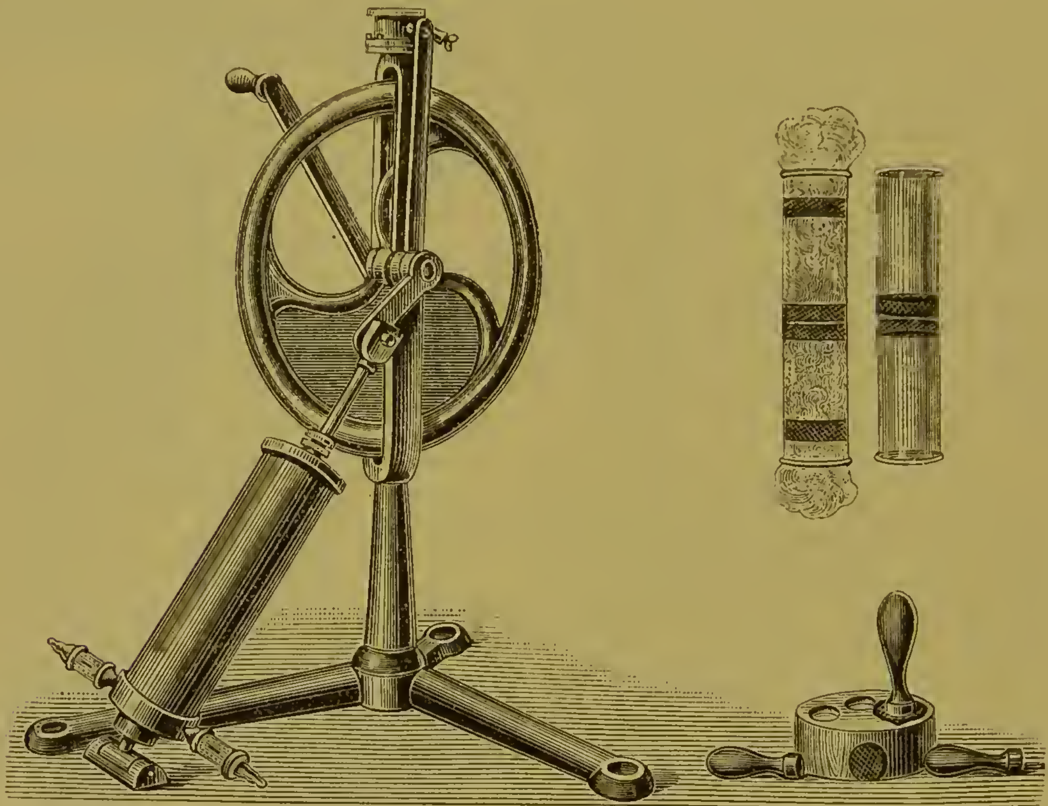


3. Die Ueberleitung der Luft über erstarrte Nährgelatine, die an der Innenwand einer grössern Röhre ausgerollt ist, geschieht bei dem vorhin erwähnten Verfahren von Hesse (Fig. 129).

An Leistungsfähigkeit steht es der Durchleitung durch verflüssigte Gelatine nach.

4. Die Durchsaugung der abgemessnen Luftmenge durch ein sterilisiertes Filter, und nachherige Aussaat des keimbeladnen Filtermaterials auf Gelatine- oder Agarplatten. Das Material kann löslich (Zuckerpulver) oder unlöslich (Glaswolle, Asbest, Sand) sein. Am besten scheint sich sterilisierter Sand zu bewähren. Die geeignetste Korngrösse wird erhalten, wenn der Sand durch einen Knopschen Siebsatz geschickt wird, wie er zur hygienischen Untersuchung der physikalischen Beschaffenheit des Bodens dient. Man nimmt nur die Körner, die sich im untersten Sieb von 0,25 mm Maschenweite ansammeln. Solchen Sand füllt Petri (Z. 3. 1) in ein 9 cm langes,

Fig. 131.



bis 1,8 cm weites Glasröhrchen derart, dass zunächst ein kleines Drahtnetz, das mit einer dem Apparat (Fig. 131) zugegebnen Form ausgeschlagen werden kann, als Stütze des Sandfilters eingeschoben wird. Darauf kommt 3 cm hoch eine Sandschichte, die von einer Kappe aus demselben feinen Drahtnetz, wie vorhin, bedeckt wird. Auf dieses erste Filter wird in ganz derselben Weise ein zweites eingeschoben, das als Kontrolle später zeigen soll, dass alle Keime im ersten Filter zurückgehalten wurden. Nun wird das Röhrchen beiderseits mit Wattepfropfen verschlossen und samt seinem Inhalte trocken sterilisiert. Zum Anschluss an die Saugpumpe wird der Wattepfropf der Luftausführungseite von einem sterilisierten, einfach durchbohrten Gummistopfen ersetzt. Durch diesen führt ein Glasröhrchen, das bei Verwendung einer Wasserstrahlsaugpumpe einen Wattestopfen zur Abhaltung etwa abspritzender Wassertröpfchen trägt. Der Wattepfropf an der Lufteinführungseite wird

kurz vor der Durchleitung der Luft entfernt und gleich darnach wieder aufgesetzt, inzwischen mit dem der andern Seite in einem sterilisierten Doppelschälchen aufbewahrt.

Der Sand wird demnächst in mehrern Kulturschälchen mit Nährgelatine oder -Agar vermischt. Ist nach einiger Zeit in den erstarrten Nährboden Wachstum erfolgt, so werden die Keime gezählt. Ueber die Einzelheiten dieses Teils gelten dieselben Regeln, wie bei der Bestimmung der Keimzahl im Wasser (S. 469 ff.).

Boden.

Bei der **Artbestimmung** kommt es zumeist auf den Nachweis von Krankheitserregern in Bodenproben an. Einer Untersuchungstelle gehen nicht selten Proben aus dem freien, gewachsnen Boden oder vom Untergrunde von Gebäuden oder aus ihrer Nähe, endlich von Zwischendeckenfüllungen, sog. Fehl- oder Füllboden, mit dem Auftrage zu, sie auf das Vorhandensein von Typhus-, Milzbrand-, Tetanus- u. a. Bazillen zu untersuchen.

Handelt es sich um den Nachweis von Tetanuskeimen, so gelangen auch wohl einzelne Teile eines natürlichen oder künstlichen Bodens zur Untersuchung, z. B. Holzsplitterchen, die bereits eine tetanische Erkrankung hervorgerufen haben, und aus der verletzten Stelle des Befallnen entfernt wurden.

Derartig kleine Teilchen werden ohne weiters einer Maus unter die Haut an der Schwanzwurzel gebracht, worauf sich, wenn wirksame Tetanuskeime daran hafteten, nach einem oder mehrern Tagen die bezeichnenden Krampferscheinungen einstellen werden, denen meistens der Tod folgt.

Nebst dem Erreger des Wundstarrkrampfes ist ein andrer, ebenfalls streng anaërober Krankheitserreger ein weit verbreiteter Bodenbewohner: der Bacillus des malignen Oedems, Vibrion septique, wie ihn die Franzosen nach Pasteurs Vorgang benennen.

Sind beide Arten, Tetanus- und Oedembazillen, im Impfmaterial vorhanden gewesen, so überwiegt gewöhnlich der Tetanusbacillus kraft seiner Eigenschaft, die Tiere schneller zu töten (Verneuil, Z. 7. 216).

Eine auch anderweitig interessante Beobachtung liegt von Le Dantec vor, der Gelegenheit hatte, die mit Sumpferde bestrichnen Giftpfeile der Eingebornen der Neu-Hebriden zu untersuchen. Der von der knöchernen Spitze älterer Pfeile abgeschabte und Meerschweinchen unter die Haut gebrachte Erdüberzug hatte den Tod der Tiere an Tetanus zur Folge; durch langdauernde Trocknung und durch die Einwirkung des Sonnenlichts waren die weniger widerstandfähigen Keime des malignen Oedems zu Grunde gegangen, die Tetanussporen aber dadurch nicht so weit geschädigt worden. Das Abgekratzte von frischen Pfeilen hingegen liess die Tiere binnen 12 bis 15 Stunden an der Pasteurschen Septikämie sterben (P. 6. 851).

Der **Tetanusbacillus** wirkt lediglich durch sein ausserordentlich starkes Gift verderblich, er selbst dringt von der Wunde aus gewöhn-

lich nicht und dann jedenfalls nicht weit ein. An der verletzten Stelle ist er mit andern Bakterien oder deren Sporen vergesellschaftet zu finden, und diese scheinen seine Giftbildung zu verstärken. Beim Menschen gelang es Schnitzler, in den benachbarten, geschwellten Drüsen neben Traubenkokken die Erreger des Wundstarrkrampfes nachzuweisen (C. 13. 679).

Findet man ein Erde-, Holz- oder dgl. Stückchen in der Wunde, so versäume man nicht, es auf eine oder mehrere Mäuse zu verimpfen; wenn solche Stückchen nicht zu finden sind, bringt man den Tieren Eiter oder Gewebteile der erkrankten Stelle in eine Hauttasche.

Stirbt das Tier an Wundstarrkrampf, so legt man vom Eiter Ausstrichpräparate an und impft auf schräg erstarrten Nähragar mit Zusatz von ameisensaurem Natron oder ähnlichen Reduktionsmitteln (S. 83) in Reagensröhrchen oder Kulturschalen, die unter Luftausschluss (S. 135) im Brutschrank gehalten werden. Um aber die Tetanusbazillen sichrer rein zu bekommen, empfiehlt es sich, dieselbe Probe von Erde u. dgl. noch durch mehrere Tiere gehen zu lassen. Dadurch verlieren sich mehr und mehr die noch anhaftenden, nicht pathogenen, sporentragenden Bodenbakterien, und die weniger widerstandsfähigen Eitererreger sind als Begleiter des Tetanusbacillus vorherrschend. Wenn man dann Kulturen mit dem Wundsekret anlegt und unter anaërobe Bedingungen bringt, so werden in der aufgehenden Mischkultur die Tetanusbazillen mit viel grösserer Wahrscheinlichkeit die widerstandfähigsten unter den gewachsnen Bakterien sein. Man findet die Bazillen mit ihren Köpfchensporen nach zweimal 24 Stunden, wenn die Kultur im Brutschrank war, ziemlich reichlich im mikroskopischen Ausstrichpräparat (Phot. Taf. II Nr. 13). In diesem Falle stellt man das Reagensröhrchen für ½ bis 1 Stunde in heisses Wasser von 80° C. und macht dann einige Abimpfungen auf frische Nährboden, die unter Luftausschluss gesetzt werden. Jedesmal gibt dieses von Kitasato (Z. 7. 227) angegebne Verfahren nicht gleich gute Erfolge, denn es können andre hochwiderstandfähige Bodenkeime den Tetanusbacillus begleiten. Heyse, der die fraglichen Bazillen sowohl aus dem Wochenfluss einer an Tetanus puerperalis erkrankten Frau, wie aus dem einer Dielenritze des Krankenzimmers entnommenen Schmutze in Reinkultur gewann, verwarf die vorgängigen wiederholten Uebertragungen aufs Tier, weil bei der zweiten und dritten Ueberimpfung die Tetanusbazillen an der Impfstelle immer seltner würden. Er säte die Bodenproben in Traubenzuckeragar in hoher Schicht aus. Nach erfolgtem Wachstum zerschlug er das Reagensglas, entnahm aus den in der Tiefe um die Erde herum entwickelten Ansiedlungen Impfmaterial und übertrug wiederum auf Agar. Diese Kultur wurde dann zweimal eine Stunde auf 80° erhitzt, worauf die folgende Abimpfung die Reinkultur der Wundstarrkrampfbazillen lieferte (D. 93. 320).

Wer nach Tetanusbazillen im Boden fahndet, wird vorteilhaft beide Verfahren anwenden, sowohl mit, wie ohne vorangeschickten Tierversuch. Dieser ist aber zur Feststellung, dass es sich wirklich um Tetanusbazillen handelt, unbedingt notwendig, wenn auch der mikroskopische Befund und die Züchtung die bezeichnenden Merkmale liefert: schlanke, die Gelatine langsam verflüssigende, am besten bei Körperwärme mit strahligen Ausläufern gedeihende, streng anaërobe, zu

Fadenbildung neigende Bazillen, die im Brutschrank rasch stecknadelkopfartig aufsitzende Sporen bilden und dabei die früher gehabte geringe Bewegungsfähigkeit vollends verlieren. Reinkulturen, Tieren einverleibt, töten sie ohne Eiterung an der Impfstelle. Im Wundeiter tetanischer Menschen oder Versuchstiere findet man nicht immer sporentragende Tetanusbazillen.

Bringt man Meerschweinchen oder Mäusen Erde, Hadernstaub u. dgl. in eine Hauttasche, so gehen sie, wenn die **Bazillen des malignen Oedems** darin vorhanden waren, binnen ein- bis zweimal 24 Stunden unter Durchtränktsein des umliegenden Gewebes von jauchig stinkender Flüssigkeit zu Grunde. Da besonders die kleinen Tiere, die Mäuse, in ihren innern Organen die Oedembazillen aufweisen, so wird man diese zum Versuch benützen, und wenn sie zugrunde gegangen sind, Kulturen auf Agarschalen anlegen, die unter Luftausschluss in den Brutschrank kommen. Die erhaltnen Ansiedlungen werden wiederum zum Tierversuch verwendet. Reinkulturen der geisseltragenden, mittelständige Sporen bildenden, bei der Behandlung nach Gram sich entfärbenden Bazillen bewirken wiederum ein ausgebreitetes Oedem, das jedoch weder Gestank noch Gasentwicklung aufweist; in jenem Falle waren diese Begleiterscheinungen durch andersartige, im Boden u. s. w. vorhandne Bakterien bedingt (S. 313 u. Phot. Taf. II Nr. 12).

Wenn es sich um die Auffindung von **Milzbrand**keimen in Bodenproben handelt, wird man Erdteilchen einigen Mäusen oder Meerschweinchen unter die Haut bringen und auch nebenbei Plattenkulturen anlegen. Die Erkennung dieser Krankheitserreger macht wenig Schwierigkeiten, wenn man zur Prüfung der aus dem Körper der Tiere oder aus den angelegten Plattenkulturen erhaltnen milzbrandverdächtigen Bakterien den Tierversuch anstellt.

Crookshank entdeckte die Milzbrandsporen auf diese Weise in Erde aus einem Winkel, der bis 9 Jahre zuvor als Begräbnisplatz für an Milzbrand gefallne Tiere gedient hatte (J. 1. 59). Interessant ist ferner die Mitteilung von Frank (Z. 1. 369), der durch ähnliche Untersuchungen die Ursache einer durch mehrere Jahre gegen Ende des Winters aufgetretenen Milzbrandseuche unter Rindern eines Gutes klarlegte: Das Futter war in einem Verschlag aufbewahrt worden, worin früher die Felle der an Milzbrand gefallnen Schafe getrocknet hatten; die Milzbrandfälle ereigneten sich immer, wenn das Futter zur Neige ging, und Teile des Lehmbodens ihm beigemengt waren. Dass unter 32 mit dem Lehmboden bestreuten Kulturplatten nur eine Milzbrandkolonie wuchs, und vier von sechs mit Lehmboden geimpften Meerschweinchen zugrunde gingen, mag als Anhaltepunkt und Richtschnur für einschlägige auszuführende Versuche dienen.

Von zwei ähnlichen Fällen, wie Frank, berichtete Rembold (Z. 4. 498; 5. 506).

Für einen etwa verlangten Nachweis von **Typhusbazillen** im Boden, der bis jetzt einwandfrei noch nicht erbracht ist, eignet sich selbstverständlich der Tierversuch nicht. Es bleibt nur übrig, Teile des Bodens möglichst fein zerdrückt auf eine Anzahl von Gelatineplatten

unter Anlegung der nötigen Verdünnungen zu bringen. Auch ist es in diesem Falle angängig, die Probe mit keimfreiem Wasser aufzuschwemmen und, nach gründlichem Schütteln in einer mit ausgekochtem Gummistopfen verschlossnen, sterilisierten Medizinflasche, kleinere Mengen (etwa 1/4—1 ccm) zur Aussaat auf Gelatineplatten zu verwenden. Ausserdem aber versuche man in einer zweiten Reihe noch die etwa vorhandnen Typhusbazillen vor der Plattenaussaat zur Vermehrung zu bringen: Nicht zu geringe Mengen des Bodens werden in ein Kölbchen mit 50 bis 100 ccm Nährbouillon geschüttet und 24—48 Stunden dem Brutschranke übergeben. Daraus macht man entweder sofort die Aussaat oder man überträgt etwa 1 ccm der Mischkultur auf ein neues Kölbchen mit Bouillon und legt nach weitern 1—2 Tagen die Plattenkultur an. Es werden verschiedne, den Typhusbazillen ähnliche Ansiedlungen aufgehen, die teils durch die Schnelligkeit ihres Wachstums und in Anbetracht ihrer dicken Auflagerungen ohne weiters von der Untersuchung ausgeschlossen werden können, teils einer eingehendern Untersuchung unter Zugrundlegung der früher angegebnen Merkmale bedürfen.

Für den Nachweis irgend welcher **andrer,** auch für Tiere pathogener **Kleinwesen** rate ich die Vorkultur in Bouillon nach zwei Richtungen hin anzulegen, in dünner und in hoher Schichte des Nährmittels. Die seichte (etwa in Doppelschälchen eingegossne), mit der Bodenprobe versetzte Flüssigkeit soll die Entwicklung von Anaërobiern hintanhalten und möglichst nur sauerstoffliebende Keime zur Vermehrung kommen lassen. Umgekehrt soll die hohe Schicht, die ausserdem nach einem der S. 135 f. angegebnen Verfahren unter Sauerstoffabschluss gehalten wird, bezwecken, dass nur strenge, höchstens noch fakultative Anaërobier angehen. Beide Proben werden für 1—2 Tage in den Brutschrank gesetzt und dann umgeschüttelt, in Mengen von 1/4—1/2 ccm zu Tierimpfungen verwendet.

Wer sich über die verschiednen im Boden aufzufindenden und nachgewiesnen Keime Kenntnis verschaffen will, lese die Arbeiten von C. Fränkel (Z. 2. 521), Frankland (Z. 6. 395), Reimers (Z. 7. 307), Fülles (Z. 10. 225), Sanfelice (H. 2. 874) u. a.

Einer der regelmässigsten Bodenkeime nicht krankheiterregender Art ist der sporenbildende Wurzelbacillus, so genannt wegen des Aussehens der von ihm auf Platten gebildeten Ansiedlungen, die denen von Schimmelpilzen oft sehr ähnlich sind. Es gibt jedoch eine ganze Anzahl von Bakterien im Boden, die solche Kolonien und mitunter Sporen von ausserordentlicher Widerstandskraft bilden. Die einen Arten sind beweglich, die andern nicht. Das ursprünglich mit dem Namen Wurzelbacillus belegte Kleinwesen ist ein unbewegliches Stäbchen. Ferner kommen im Boden die merkwürdigen, S. 198 erwähnten Bakterien vor, die bei 50—70° die besten Bedingungen für ihr Gedeihen finden.

Die **Mengenbestimmung**, die überall in ihr Recht tritt, wo es auf vergleichende Untersuchungen über die Bakterienzahl in verschiednen Bodenarten oder in einzelnen Schichten desselben Platzes ankommt, wird durch die Beschaffenheit des Materials mehr oder weniger erheblich erschwert.

Wie in der Abhandlung über die Luft auseinander gesetzt, müssen wir uns von vorneherein mit der Bestimmung bloss der Keime begnügen, die auf den gebräuchlichen Gelatine- und Agarnährboden zur Entwicklung gelangen. Da aber der Boden sehr reich an rasch wachsenden und die Gelatine schnell verflüssigenden Bakterien ist, die die langsamer gedeihenden leicht überwuchern und dem Nachweis entziehen können, da er ferner besonders zahlreiche strenge Anaërobier einschliesst, so sind schon in dieser Richtung schwerwiegende Fehlerquellen vorhanden.

Vor allem aber ist die Gewinnung gleichmässiger Ergebnisse durch den Umstand behindert, dass sich viele Bodenarten nur schwer oder überhaupt nicht gleichmässig verteilen lassen. Am einfachsten liegen die Verhältnisse bei weicher Erde, die sich verreiben und zerdrücken lässt, demnächst bei feinem Sand, der nicht allzu erhebliche Unterschiede der Korngrösse besitzt. Wo aber kleine und grosse harte Teile vermengt, steinige Beimengungen vorhanden sind, da stehen einer Verkleinerung und gleichmässigen Zerreibung wesentliche Schwierigkeiten im Wege.

Die erste Bedingung bei derartigen Untersuchungen ist, dass die entnommenen Proben so bald als möglich zur Aussaat gebracht werden. Denn die von Natur aus darin enthaltnen Keime vermehren sich binnen verhältnismässig kurzer Zeit in unkontrollierbarer Weise (C. Fränkel) und zwar um so üppiger, je günstiger ihnen Feuchtigkeit und Wärme zu Gebote stehen.

Zweitens muss die Aussaat mit möglichst genau abgemessnen Mengen gemacht werden. Mit C. Fränkel bedienen wir uns, da eine Wägung viel zu grosse Fehler bedingt, der volumetrischen Methode und messen die zur Aussaat bestimmten Mengen mit einem Instrumente ab, dem der scharfe Löffel des Chirurgen zum Vorbild dient. C. Fränkel liess zu diesem Zweck aus Platin einen Löffel von genau $^1/_{50}$ ccm Inhalt herstellen. Spätere Untersucher bedienten sich auch wohl grössrer Gemässe.

Diese Löffelchen müssen vor und nach Gebrauch geglüht werden. Infolgedessen eignen sich solche mit Holzgriff nicht, denn die Hitze löst den Lack im Holzgriff auf. Sie müssen ganz aus Metall gefertigt sein. Ich liess mir einen Doppellöffel von Eisen herstellen (Fig. 132),

Fig. 132.



dessen eine Höhlung das Doppelte der gegenüberliegenden fasst. Er wird an der nicht erhitzten Seite mit Papier gefasst, wenn er durch Wärmeleitung zu heiss wird. Ein Platininstrument war mir zu teuer. Von Haus aus braucht ein Löffel nicht einen festgesetzten Bruchteil eines Kubikzentimeters zu fassen. Wohl aber muss sein Inhalt zunächst mit Wasser*), dann mit verschiednen Bodenproben genau aus-

*) In ein Wägegläschen kommt Filtrierpapier, dann wird das Gewicht auf der Analysenwage festgestellt. Hierauf füllt man das Löffelchen zehnmal gestrichen voll mit destilliertem Wasser, reinigt jedesmal erst die Aussenseite des Löffels und schüttet seinen Inhalt ins Wägegläschen, worauf er am darin befindlichen Fliesspapier abgetupft wird. Eine zweite Wägung lässt das Gewicht der zehn Löffelchen Wassers ermitteln.

probiert werden, dann lässt sich die gefundne Keimzahl später leicht auf 1 ccm Boden berechnen.

Nach C. Fränkel wird die mit einem derartigen Löffel gemessne Probe sogleich in die Gelatine geschüttet, im Röhrchen mit einem starken Platindraht möglichst zerkleinert, und der Inhalt auf Platten oder in Schalen gegossen, oder zu Rollplatten verarbeitet, die die beste Gewähr gegen den Verlust und gegen zufällige Verunreinigungen bieten. Freilich sind verflüssigende Kolonien darin sehr störend und können in kurzer Zeit die ganze Aussaat verderben. Darum empfiehlt es sich, jeden Versuch doppelt in gegossnen und gerollten Platten anzulegen, was den Vorteil der möglichen Kontrolle in sich schliesst.

Ich ziehe eine Verbindung der Kultur auf der ebnen Platte (oder im Schälchen) mit der Kultur im Rollröhrchen vor und habe dabei den Vorteil, dass die Keime in der doppelten Gelatinemenge verteilt werden, was bei keimreichem Materiale von wesentlichem Belang ist:

Wenn die abgemessne Bodenprobe in die verflüssigte Nährgelatine geschüttet ist, so setze ich den Wattepfropfen auf und suche durch sanftes Schütteln die kleinen Sandkörner oder zerdrückten Erdteilchen im Nährmittel möglichst zu verteilen. Das Schütteln muss bis zum Ausgiessen fortgesetzt oder kurz vorher nochmals wiederholt werden. Trotzdem wird es nicht gelingen, alle Erdbröckchen mit der Gelatine auf die Platte zu bringen. Darum übergiesse ich den im Röhrchen bleibenden Rest mit dem Inhalt eines andern, frisch erwärmten und am Rande abgeglühten Gelatineröhrchens. Dann senge ich den vorhin in einer Klemmpinzette beiseite gelegten Wattestopfen oder den des eben entleerten Röhrchen in der Flamme oberflächlich ab und verschliesse damit die Mündung des Kulturröhrchens. Die Nährgelatine wird nun mit dem Rest der Bodenprobe, wie das erstemal, geschüttelt. Will man eine gleichmässige Verteilung erzielen, so kommt man ohne Benetzung des Wattestopfens nicht aus. Ich scheue mich nicht, das ganze Röhrchen für einen Augenblick umzukehren, so dass die Gelatine auf dem Stopfen (aus nicht entfetteter Watte!) steht und sorge nur dafür, dass nachher keine Erdbröckchen daran hängen bleiben, was leicht gelingt. Dann rolle ich im Eiswasser oder unter der Wasserleitung aus. Wenn die genügende Entwicklung der Keime erfolgt ist, wird ausgezählt. Die Keimzahl des Rollröhrchens wird zu der der Platte addiert und dann auf den Kubikzentimeter berechnet.

Harte, schwer zerdrückbare Bodenarten verrieb Reimers zu $^1/_{10}$ ccm in einem sterilisierten Achatmörser mit keimfreiem Pistill mit der Nährgelatine, verteilte das Gemenge mit einem Stahllöffel auf 5—7 Gelatineröhrchen, mit dem Inhalt des letzten den Mörser ausspülend, um möglichst wenig Keime zu verlieren, und rollte sie aus. Die bei der Verreibung und Einfüllung unvermeidbaren zufälligen Verunreinigungen aus der Luft glaubte R. unberücksichtigt lassen zu dürfen. Immerhin würde es sich empfehlen, eine derartige Verreibung unter dem Schutze einer übergehaltnen Glasglocke vorzunehmen.

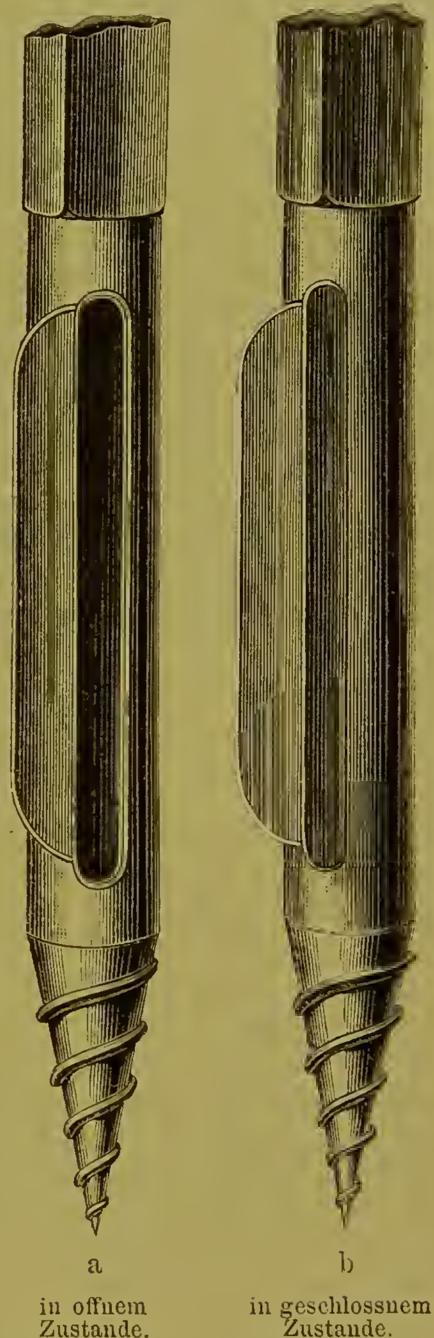
Um Verdünnungen sehr keimreicher Proben zu erzielen, hat man sie mit Wasser aufgeschwemmt, was sich jedoch schon deshalb nicht empfiehlt, weil ein grosser Teil der Keime von den Bröckchen gar nicht abgewaschen und nicht losgelöst wird. Geeigneter scheint

dazu die gleichmässige Verreibung mit abgemessnen Mengen sterilisierten Sandes zu sein (Eberbach H. 1. 252). Die Entkeimung des Sandes erfolgt wegen der oft sehr widerstandfähigen Sporen im Digestor bei 120° binnen 10 Minuten.

Hinsichtlich der Ausführung der Zählung der zur Entwicklung gelangten Kolonien verweise ich auf den Abschnitt Wasser (S. 469).

Alle die bisher beschriebnen Verfahren bezogen sich auf die Untersuchung oberflächlicher Bodenschichten, wovon Proben mit sterilisierten Glasstäben oder metallnen Geräten (Skalpellen, Spateln) leicht in sterilisierte Kölbchen gesammelt werden können.

Fig. 133.



a in offnem Zustande. b in geschlossnem Zustande.

Sollen aber tiefer gelegne Erdschichten untersucht werden, so muss man sich ihrer Gewinnung in einer Weise versichern, die jedwelche Verunreinigung seitens der höher befindlichen ausschliesst.

Wir verdanken C. Fränkel einen Bohrer, womit das in durchaus zuverlässiger Art gelingt. Er übertrifft alle andern ähnlichen Instrumente, wie den klavierschlüsselartigen und den amerikanischen Erdbohrer Smolenskis, sowie den mit einem graduierten Stöpsel zum nachträglichen Herausschieben der ausgestochnen Bodenschichten versehenen Cylinder von Klementieff (J. 3. 473).

Die Bohrstange ist 1 ½ m lang und kann durch Ansatzstücke bis auf 3 m verlängert werden. Oberhalb des endständigen Bohrgewindes (Fig. 133) befindet sich ein 12 cm langer, 2 cm tiefer, löffelförmiger Ausschnitt, dessen hinterer Rand verschärft ist. Die Kammer, zu der er führt, ist vor der Entnahme durch eine bewegliche Hülse verschlossen, deren rechter Rand etwa 15 mm hoch umgebogen ist. So lange der Bohrer von links nach rechts in den Boden hineingebohrt wird, bleibt diese Hülse, von einem Vorsprung gehalten, geschlossen. Ist man in der gewünschten Tiefe angekommen, so bedarf es nur einiger weniger Drehbewegungen von rechts nach links, um die Hülse von der Kammer wegzuschieben und der Erde Eintritt zu verschaffen. Eine nachfolgende Drehung in der ursprünglichen Richtung von links nach rechts schliesst unterirdisch die Kammer automatisch. Wird nun das Instrument aus dem Bohrloch herausgezogen, so kann man sicher sein, nur Material aus der gewünschten Tiefe vollkommen

rein vor sich zu haben. Das Instrument selbst muss natürlich vor Gebrauch durch Glühen der Kammer und der Hülse sterilisiert werden.

Derartige Bohrer lassen sich aber, wie die Erfahrung lehrte, nur bei Erdreich und sandigem Boden verwenden. Steiniger Untergrund setzt ihrem Eindringen unüberwindliche Hindernisse entgegen. Ausserdem aber sind sie so kostspielig, dass nicht jede Untersuchungsstelle im Besitze eines solchen Instruments sein kann. In den meisten Fällen, wo es sich um die bakteriologische Untersuchung des Bodens als Baugrund u. dgl. handelt, wird man deshalb auf **Ausgrabungen** angewiesen sein.

Man lässt eine etwa 4 m tiefe Grube anlegen. In diese steigt man auf einer Leiter selbst hinab und schlägt ca. 1/2 m vom Grunde entfernt in die senkrechte Wand eine ungefähr 1/2 m tiefe Höhle. Von der obern Wand dieser Höhle und zwar an einer Stelle, wohin weder Spaten noch Hacke gekommen waren, gräbt man mit einem in sterilisierter Büchse mitgeführten sterilisierten Spatel oder Bodenlöffel ein und fängt das herabfallende Erdreich in einem sterilisierten Doppelschälchen auf. Nachdem man die Höhe von der Oberfläche bis zur Entnahmestelle nachgemessen und das Doppelschälchen mit der nötigen Aufschrift versehen hat, steigt man etwa 1 m höher und entnimmt ungefähr in der Mitte der senkrechten Wand aus einer zweiten Höhle in derselben Weise eine Probe, schliesslich ebenso etwa 10—15 cm unter der Oberfläche eine dritte. Von jeder der drei Höhlen nimmt man auch die Proben für eine allenfallsige physikalische und chemische Untersuchung (mehrere Kilo in Töpfchen oder Kistchen). Wenn man so bald als möglich die Aussaaten auf Platten und in Rollröhrchen folgen lässt, so gelingt es auch auf diese Weise, ohne Bohrer einwandfreie Ergebnisse zu erzielen.

Wasser.

Wie die mikroskopische Untersuchung des Wassers und des aus ihm durch freiwillige Absetzung ausgeschiednen oder des ausgeschleuderten Bodensatzes ein vortreffliches, unentbehrliches Verfahren zur Erkennung der Art seiner Verunreinigung überhaupt ist, so lässt sich ihrer auch beim Suchen nach Kleinwesen nicht entraten, da sie Dinge enthüllt, die sich der künstlichen Züchtung entziehen, so die tierischen Mikroorganismen, Infusorien, Diatomeen, dann eine Anzahl von Bakterien und von grünen, wie farblosen Algen. Von den farblosen Algen beanspruchen vornehmlich Beggiatoa, Cladothrix und Crenothrix unsre Aufmerksamkeit, diese besonders in eisenhaltigen Wässern, wo ihre Fadengewirre in grosser Ueppigkeit zu gedeihen Gelegenheit haben, und als mächtige, von eingelagertem Eisenoxydhydrat rot, grün oder braunschwarz gefärbte Massen zur Verstopfung der Rohre Anlass geben können.

Eine **Artbestimmung** der Bakterien, die sich im gefärbten Ausstrich des Wassers verhältnismässig spärlich vorfinden, ist wie sonst auch, mit dem Mikroskop nicht möglich. Dazu ist nur die Züchtung auf festen und durchsichtigen Nährboden geeignet.

Wenn auch unter den saprophytischen, nicht krankheitserregenden Bakterien gewisse Wasserbewohner in der Kultur sofort in die Augen fallen, namentlich die farbstoffbildenden, grünen, fluoreszierenden, roten, gelben, violetten, schwarzen u. s. w., sowie die Gelatine verflüssigenden Ansiedlungen, so ist doch weitaus die Mehrzahl der Wasserbakterien mit solch auffallenden Eigentümlichkeiten nicht begabt, und es bedarf eines zeitraubenden, eingehenden Untersuchungsgangs zur Feststellung, dass regelmässig die gleichen Bakterienarten in Wässern verschiedner Oertlichkeiten vorkommen, sowie zur Mengenbestimmung der Gruppen gleichartiger Ansiedlungen. Eine solche Sichtung ist weder von allgemeiner Wichtigkeit, noch liegt ein hygienisches Interesse dafür vor. Auch ist es meist nicht möglich, eine gefundne Bakterienart lediglich nach der Beschreibung mit einer von einem andern Untersucher aus anderm Wasser gezüchteten Art mit Sicherheit zu vergleichen, dazu müssten Reinkulturen oder wenigstens gute Photogramme der betreffenden Bakterien und ihrer Ansiedlungen benützt werden, eine Arbeit, deren Mühseligkeit nicht im Verhältnis zum erreichbaren Erfolge steht*).

Für gewisse gewerbliche Zwecke, z. B. für den Betrieb von Milchwirtschaften, Brauereien u. dgl. kann die Bestimmung von Wichtigkeit werden, welcherlei Keime im Wasser vorhanden sind, die auf die einschlägigen Gärungsvorgänge von nützlichem oder nachteiligem Einfluss sind. E. Chr. Hansen hat in diesem Sinne sterilisiertes Bier oder keimfrei gemachte Würze in Kölbchen mit 0,02 ccm Leitungswasser versetzt und zum Vergleich 0,5 ccm desselben Wassers auf gewöhnliche und auf Würzegelatine ausgesät (Cr. 3. 377), eine Methode, die später von Holm, Wichmann u. a. mit Erfolg wiederholt und teilweise abgeändert und vervollkommnet wurde (Cr. 13. 193 und 207).

Eine sehr grosse Bedeutung hat der Nachweis von Krankheitserregern im Wasser. Sehen wir ab von den für die Verbreitung von Zoonosen in Betracht kommenden, wie den Bakterien des Milzbrandes, der Hühnercholera, des Rotlaufs, der Seuche und der Pest der Schweine u. a., die durch direkte Einspritzung des Niederschlags aus dem Wasser in den Körper empfänglicher Tiere (Mäuse u. a.) herausgebracht werden können, so kommt hier in erster Linie die Auffindung von Choleravibrionen und Typhusbazillen in Betracht.

Der Nachweis von Choleravibrionen.

Durch einfache Aussaat einer kleinen Menge Wassers auf Gelatineplatten ist dieser Nachweis zwar einigemal geglückt, z. B. Koch in einem indischen Tank, C. Fränkel (D. 92. 925) im Zollhafen von Duisburg u. a., jedoch waren die wenigen beweisenden Befunde gegenüber den zahlreichen ergebnislosen Untersuchungen nicht geeignet, für das häufige Vorkommen der fraglichen Bakterien im Trink- und Gebrauchwasser zu sprechen.

---

*) Wer sich aber für derartige Untersuchungen interessiert, sei auf die Arbeiten von O. E. R. Zimmermann, Ueber die Bakterien unsrer Trink- und Nutzwässer, insbesondre der Chemnitzer Wasserleitung, verwiesen; 1. und 2. Reihe mit 30 Photogrammen bei Karl Brunner (M. Bülz), Chemnitz. Ferner auf A. Lustig, Diagnostik der Bakterien des Wassers, 2. Aufl., übersetzt von R. Teuscher mit einem Vorwort von P. Baumgarten; Jena und Turin 1893.

Ich war der erste, der in der Annahme, dass daran lediglich die zu geringe Aussaatmenge Schuld trüge, die Benützung grösserer Wassermengen, etwa 200—500 ccm, vorschlug. Ich setzte der Probe geeignete Nährstoffe zu, wartete ab, bis sich die Choleravibrionen, ihrem Sauerstoffbedürfnis folgend, an die Oberfläche begeben und dort vermehrt hatten, und legte dann Plattenaussaaten an (C. 12. 353). Wie die Erfahrung lehrte, hat sich diese Methode bewährt, und die Auffindung von Cholerabakterien in vielen Fällen ermöglicht, wo man mit der unmittelbaren Aussaat von 1 ccm Wasser nicht zum Ziele kam.

Man giesst 200 ccm des zu untersuchenden Wassers in ein grösseres, wenigstens 300 ccm haltendes Becherglas und schüttet 2 g Wittesches Pepton und ebensoviel Kochsalz hinein. Dann lässt man die Probe, bedeckt mit Papier (das nach dem Versuch verbrannt wird), oder mit einer passenden Glasschale, längere Zeit ruhig stehen; wenn ein Brutschrank vorhanden, in diesem. Bei 37 ° vermehren sich etwa vorhandne Cholerabazillen rasch. Schon von der 10. oder 12. Stunde nach der Aussaat ab kann man sie finden, wenn man von der Oberfläche mit einer Platinöse eine Kleinigkeit entnimmt und zur Plattenkultur verarbeitet. Zum schnellen Nachweis werden ferner Ausstriche auf Agarschalen gemacht, die in den Brutschrank von 37 ° mit dem Deckel nach unten gestellt werden. Daneben legt man Aussaaten in Nährgelatine an. Da bei der Häufigkeit der Entnahmen — sie folgen sich in 5—6—12stündigen Zwischenräumen — und bei mehreren vorhandnen Proben die Plattenaussaaten mit den nötigen Verdünnungen eine oft kaum zu bewältigende Arbeit machen würden, so empfahl ich dazu die Gelatinescheiben (S. 113). Weil in stark bakterienhaltigen, z. B. in Flusswassern, die rasch wuchernden Proteusarten die Untersuchung stören können, so wird nur wenig ausgesät, oder es werden Scheiben auf zwei Platten der Reihe nach von demselben Materiale geimpft, also zwölf Verdünnungen angelegt. Die Platten werden in einer feuchten Kammer dem auf höchstens 22 ° erwärmten Brutschrank übergeben. Von den auf Agar oder Gelatine gewachsnen verdächtigen Ansiedlungen werden Abimpfungen auf Peptonwasser gemacht, nach erfolgter Entwicklung auf festen Nährboden zur Sicherung der Reinkultur abgeimpft, und die Nitrosoindolreaktion mit Zusatz einiger Tropfen reinster Schwefelsäure angestellt. Hinsichtlich der kennzeichnenden Merkmale der Vibrionen und ihrer Ansiedlungen, sowie der genauern Beschreibung des Gangs der Untersuchung sei auf S. 402 verwiesen.

Vibrionenarten, die denen der Cholera sehr ähnlich sind, die in Peptonwasser gezüchtet die Nitrosoindolreaktion liefern, und die für Meerschweinchen in derselben Weise verderblich sind, wurden seitdem wiederholt im Flusswasser gefunden, zuerst in der Spree von Rubner (H. 3. 717) und fast gleichzeitig von andern Untersuchern in der Elbe und in der Donau. Ihr Wachstum in Gelatinekulturen wich von dem der Cholerabakterien etwas ab. Als ein sehr wichtiges Unterscheidungsmerkmal hat Kutscher bei einer Reihe solcher Wasservibrionen die Fähigkeit der Kulturen, im Dunkeln zu leuchten, gefunden (S. 399 f.).

Der Nachweis von Typhusbazillen

ist noch schwieriger, da sie sich weder in ihrem Sauerstoffbedürfnis noch in ihren sonstigen Eigentümlichkeiten so hervorstechend von andern ähnlichen unterscheiden, die das verunreinigte Wasser reichlich birgt, zumal wenn mit den typhusbazillenhaltigen Abgängen Darmbakterien in grosser Menge hineingelangt sind.

Statt ihnen an der Oberfläche der Wasserproben nachzuspüren, wurde versucht, der Typhusbazillen im Niederschlage habhaft zu werden. Finkelnburg hat dazu die freiwillige Sedimentierung benützt (C. 9. 301); er goss etwa 500 ccm des verdächtigen Wassers in ein cylindrisches Gefäss, das sich unten zu einem mit Hahn verschlossnen Ausflussröhrchen verjüngte; über diesem lag eine heraushebbare Scheibe, auf der sich die schwebenden Teile ablagern konnten; war dies nach einigen Stunden geschehen, so liess F. das Wasser unten ablaufen, und unterzog den Bodensatz der Untersuchung in Plattenkulturen.

Man kann daran denken, die Zentrifuge zur Ausschleuderung der Typhusbazillen zu benützen; ob mit wesentlichem Erfolg, scheint mir jedoch fraglich; denn nach drei Minuten langer Ausschleuderung bekam ich in einem absichtlich mit Typhusbazillen versetzten Wasser nicht mehr Keime im Bodensatz, als aus der Mitte und von der Oberfläche*).

Ströll fing Typhusbazillen im fliessenden Wasser mit einer netzartigen Vorrichtung ab. Sie bestand aus einem in Rahmen hängenden, spitzen Beutel von Verbandgaze, worin Glaswollebauschen lagen. Nach 4—5stündiger Einlegung in den Bach wurde die Glaswolle herausgenommen und in einen sterilisierten Scheidetrichter gehängt, dessen Boden ein Stückchen Platinblech zur Zurückhaltung der schwebenden Teile bedeckte. Nun wurde die Glaswolle mit sterilisiertem Wasser abgespritzt und dieses Waschwasser zur freiwilligen Absetzung einige Stunden stehen gelassen. Die nach Oeffnung des Hahns erhaltnen Wassertropfen wurden auf Gelatineplatten ausgesät.

Da man, wie erwähnt, in einem Typhusbakterien haltenden Wasser Koli- und ähnliche Bakterien erwarten muss, so hat das Untersuchungsverfahren mit grossen Schwierigkeiten zu kämpfen. Mannigfach sind deshalb die dafür angegebnen Methoden. Fast alle gehen auf Zusätze von entwicklungshemmenden Mitteln zum Nährboden hinaus, in der (nicht bestätigten) Annahme, dass sie für die typhusähnlichen Bakterien schädlicher sein sollen, wie für die Typhusbazillen selbst.

Mehrere Forscher haben dazu Karbolsäure benützt**). Thoinot setzte einige Stunden vor der Aussaat 20 Tropfen davon einem halben Liter Wasser zu.

Parietti gab zu je 10 ccm Bouillon 3, 6 und 9 Tropfen einer Karbolsalzsäurelösung (5 : 4 : 100) und dann 1, 4, 8 und 12 Tropfen des fraglichen Wassers. Entwickle sich nach 24 Stunden bei Brutschrankwärme eine Trübung, so rühre sie — meint er — wahrscheinlich von Typhusbazillen her, die dann mit den üblichen Hilfsmitteln zu erkennen seien.

---

*) Für andre — geissellose — Bakterien scheint sie sich zu bewähren. So gelang es Landmann mit ihrer Hilfe aus dem Wasser eines Brunnens virulente Kettenkokken auf der Agarplatte zu züchten (Cr. 14. 430).

**) Siehe meinen zusammenfassenden Bericht über die Neuerungen auf dem Gebiete der bakteriologischen Untersuchungsmethoden seit dem Jahre 1887. C. 10.

Chantemesse und Widal vermengten die zur Kultur bestimmte Nährgelatine mit 0,25 % Karbolsäure. (Das war unter allen Umständen zu viel.)

Während Rodet höhere Wärmegrade von 45°—45°,5 zur Ausschaltung andersartiger, ähnlicher Bakterien benützt hatte, ging Vincent so weit, beide schädigenden Punkte zu vereinigen und das zu untersuchende Wasser in schwach karbolisierte Bouillon auszusäen, die bei 42° gehalten wurde.

Holz empfahl in Anbetracht des eigentümlichen Wachstums der Typhusbazillen auf Kartoffeln eine Gelatine mit Kartoffelsaft statt mit Fleischwasser (S. 99); die typhusverdächtigen Proben wurden mit oder ohne Vorbehandlung nach Thoinot entweder in die unvermischte oder in die mit 0,05 % Karbolsäure versetzte Kartoffelgelatine eingesät.

Uffelmann endlich suchte die Entwicklung fremder Ansiedlungen in einer mit Methylviolett gefärbten, sauern Nährgelatine auszuschalten, worauf Typhusbazillen noch wachsen sollten, und zwar zum Unterschied von andern, unter Annahme der violetten Farbe. Einer brieflichen Mitteilung des Autors zufolge wurde die Gelatine etwas anders dargestellt, als er selbst früher (B. 91. 857) angegeben: Die gewöhnliche Nährgelatine wird möglichst genau neutralisiert und mit Citronen- oder Milchsäure soweit versetzt, dass sie 0,2 % davon enthält. Auf 100 ccm der angesäuerten Gelatine kommen dann 2 mgr „Methylviolett VIb“, das vorher in einer Mischung von gleichen Teilen Alkohol und Wasser gelöst wurde. Dampfsterilisierung.

Alle diese Methoden bedeuten aber eine Erschwerung des Nachweises der Typhusbazillen, da die Kolibakterien ebenso oder noch besser fortkommen, und dazu infolge der Entwicklungshemmung derart kleine Ansiedlungen bilden, dass ihre Verwechslung mit Typhusbazillen noch leichter ist. Nur das Verfahren von Chantemesse und Widal hat sich, wenn man den Karbolsäurezusatz auf 0,05 % herabsetzte, insofern brauchbar erwiesen, als sich die Entwicklung verflüssigender, die Beobachtung störender Kolonien auf der Platte hintanhalten liess, ohne dass die Typhusbakterien wesentlich behindert worden wären (Dunbar Z. 12. 485; s. a. Köhler Z. 13. 54).

Was die Unterscheidungsmerkmale von Typhus- und ihnen ähnlichen Bakterien betrifft, so gilt hier alles auf S. 385 ff. Gesagte. Mit den von der Nährgelatine oder vom Nähragar abgeimpften verdächtigen Kolonien müssen alle einschlägigen Züchtungsverfahren unter stetiger Heranziehung einer anerkannten Typhusbazillenkultur durchgemacht werden. Das Aussehen der Ansiedlungen auf Platten, das eigentümliche, farblose Wachstum auf Kartoffeln, die mangelnde Gerinnung der besäten Milch, das Ausbleiben jeglicher Gasentwicklung beim Gärungsversuch, das mikroskopische Verhalten u. s. w. geben den Entscheid. Nie genügt eins dieser Merkmale allein; alle zusammen genommen können erst das Urteil fällen lassen.

Um nochmal auf Gewinnung von Typhusbakterien aus Wasser zurückzukommen, so halte ich es trotz eines mangelnden hervorragenden Sauerstoffbedürfnisses doch für möglich, sie durch ein ähnliches Verfahren, wie ich es für Auffindung der Choleravibrionen angegeben, mit grösserer Wahrscheinlichkeit zu gewinnen. Wenn sich auch die Doppelgänger in grössrer Zahl darin ansammeln, so muss doch notwendig das Wasser auch an Typhusbazillen erheblich reicher werden, als es ehedem war, ganz abgesehen von dem Vorteil, den eine 200 mal grössere Wassermenge bietet.

Eine Anreicherung an gesuchten Krankheiterregern vor der weitern Verarbeitung hat früher schon Jäger zum erfolgreichen Nach-

weis seines **Bacillus proteus fluorescens** im Flusswasser benützt, jedoch nur 1 ccm vom Wasser in Nährbouillon ausgesät. Nach zweitägigem Wachstum der Mischkultur wurden je 0,3 ccm Mäusen in die Bauchhöhle gespritzt; sie erlagen dann der Infektion mit den gesuchten Bazillen, während dass Wasser selbst, auf gleiche Weise einverleibt, ohne Wirkung geblieben war.

Die Anlegung von Mischkulturen benützte Blachstein um einen allgemeinen Ueberblick über das Vorhandensein oder den Mangel gesundheitschädlicher Bakterien überhaupt zu bekommen. Bouillonkulturen, mit 1 ccm des Wassers angelegt, waren für Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen und Tauben mehr oder weniger unschädlich, wenn das betreffende Wasser von hygienisch guter Beschaffenheit war. Mischkulturen schlechter Wasser, in ähnlicher Weise nach mehrtägigem Aufenthalt im Brutschrank zu 0,2—1 ccm verimpft, bewirkten den Tod der Tiere (P. 7. 689). Einwandfrei sind diese Versuche nicht; denn, wie wir wissen, können Aufschwemmungen selbst harmloser Bakterien, zu 0,5—1 ccm Meerschweinchen in die Bauchhöhle gespritzt, tödlich wirken (Sobernheim, H. 3. 997). Ferner hätte doch auch nachgeforscht werden müssen, welchen Bakterienarten die Tiere erlegen waren.

Die **Mengenbestimmung** der Keime im Wasser dient zur Vergleichung verschiedner Wasser untereinander. Eine bindende Beurteilung der Brauchbarkeit lässt sich im allgemeinen nicht daraus gewinnen, da sich ein Grenzwert von allgemeiner Gültigkeit nicht festsetzen lässt. Wenn auch gewöhnlich 500 Keime in 1 ccm Wasser als ein zulässig höchstes Mass angegeben werden, so lässt sich diese Forderung in vielen Fällen doch nicht einhalten; man müsste ja die Wasserversorgung so mancher Städte für unbrauchbar erklären, die mit enormen Kostenaufwänden auf den Rat und das Gutachten bewährter Männer der Wissenschaft und der Technik eingerichtet wurde und Jahre hindurch zur Zufriedenheit in Betrieb war. Was könnten auch ein paar Hundert harmloser Wasserbakterien mehr dem Menschen schaden, der mit gewissen Speisen und Getränken noch eine weit grössere Zahl lebender Keime in seinen Verdauungskanal einführt?

Ein ander Ding ist es mit der Verdächtigkeit eines Wassers, das viele Bakterien enthält. Denn sie weisen darauf hin, dass unreine Zuflüsse bestehen müssen, wobei die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, dass auch einmal Krankheiterreger mit hineingelangen können. Bei solchem Verdacht ist aber die Artbestimmung der Keime weit wichtiger, und namentlich zu Cholera- oder Typhuszeiten müssen die einschlägigen Untersuchungen fortlaufend gemacht werden, während die Bürger eindringlich ermahnt werden sollen, das fragliche Wasser nur in gekochtem Zustande zu verwenden. Selbst die besten Filteranlagen, womit man in vielen Städten Oberflächenwasser zu reinigen versucht und auch von vielen Keimen befreien kann, lassen Bakterien aller Art durch (C. Fränkel und Piefke) und zwar um so mehr, je frischer ein Sandfilter in Gebrauch genommen, und je dünner die Schlammschicht ist, die als die eigentliche filtrierende Masse auf den oberflächlichen Schichten des Feinsandes sich ablagert, allmählich aber so stark wird, dass sie nicht mehr die genügende Menge Wasser liefert. Ein derartig „tot gearbeitetes Filter“ wird ausser Gebrauch gesetzt und gereinigt, um dann von unten durch Rückstauung des filtrierten Wassers und dann erst von oben mit dem frisch zu filtrierenden Wasser

gefüllt zu werden. Bei solchen Anlagen setzt der eigentliche und hauptsächlichste Wert der Mengenbestimmung der Keime ein. Fortlaufende, unter sich vergleichbare Zählungen des Keimgehalts in 1 ccm Wasser lassen sogleich erkennen, wann im Filtrierungsverfahren etwas in Unordnung geraten ist, sie sind also die beste Handhabe für die Beurteilung des guten Standes der Filteranlage*).

Doch ohne Wert ist auch für andre Verhältnisse die Bestimmung des Keimreichtums eines Wassers nicht. Ein keimarmes Wasser wird uns, wenn Krankheiterreger darin fehlen, immer besser erscheinen, als ein keimreiches, und je höhere Zahlen wir in den einzelnen Proben finden, desto bedenklicher muss das Wasser für Trink- und Gebrauchzwecke erscheinen. Die chemische Untersuchung, die jedesmal neben der bakteriologischen einher gehen muss, liefert dann weitre Gesichtspunkte für unsre Entscheidung. Auf diese werde ich am Schlusse des Kapitels noch zurückkommen.

Die Keimzählung lässt sich ferner sehr gut verwenden, um Verunreinigungen von Wasser während seines Laufs festzustellen, sei es in Oberflächenwasser (Flüssen) oder in geschlossnen Leitungen.

Würzburg beispielsweise bezieht sein Wasser aus einigen Quellen, die in überwölbten, vom Zutritt Unberufner abgeschlossnen Felsenbecken gefasst sind. Hier lässt sich die vollkommene Abwesenheit von Keimen feststellen. Auf seinem Lauf zum Pumpwerk haben sich bereits einige Keime eingeschlichen und der Abnehmer bekommt es schliesslich mit 40—100, manchmal auch mehr Keimen im Kubikzentimeter. Brauchbare Aufschlüsse gibt die bakteriologische Untersuchung des Wassers in Hochreservoiren und besonders in den kleinen Hausbehältern, die für den Bedarf in höhern Stockwerken vorgesehen werden mussten. Der ständig abfliessende und wieder erneuerte Inhalt zeigt durchaus keine nennenswerte Keimvermehrung, selbst nicht in der warmen Jahreszeit. Findet man in dem aus diesen Behältern bezognen Wasser, bei wiederholten Prüfungen, plötzlich auffallend mehr Keime, so lässt das auf eine zufällige örtliche Verunreinigung schliessen.

Ausführung der Untersuchung.

Die **Entnahme** ist einfach, wenn man einen Auslass mit ständig fliessendem Wasser hat. Ein nur für den Augenblick von seinem Wattepfropfen entblösstes, sterilisiertes Reagensglas, Kölbchen oder Medizinfläschchen wird zum Teil gefüllt und alsbald $^1/_2$ bis 1 ccm davon mit verflüssigter Nährgelatine gemischt, die zur Platte verarbeitet wird.

Die Abmessung geschieht mit sogenannten Wasserpipetten, wie sie S. 466 beschrieben werden.

Bei nicht ständig laufendem Wasser tritt die Frage heran,

---

*) Wenn ein Wasser mehr als 1000 Keime in 1 ccm enthält, so macht sich nach Gottstein (V. 133. 295) auf Zusatz von gleichen Teilen (10 ccm) Wasserstoffsuperoxyd eine Gasentwicklung bemerkbar. Diese makroskopische Prüfung hält G. zur orientierenden Untersuchung über die Leistungsfähigkeit von Filtern geeignet. Die Erscheinung beruht auf einer spaltenden Wirkung, die die Mikroorganismen auf Wasserstoffsuperoxyd ausüben. Die Wirkung ist nicht an das Leben der Zelle gebunden, sondern auf ihren Gehalt an Nukleïn. Bei der Ausführung muss das Probierglas vorher ausgeglüht worden und wieder abgekühlt sein, damit nicht etwaige Verunreinigungen ein positives Ergebnis der Reaktion vortäuschen.

soll der Auslass vor der Oeffnung des Leitungsrohrs oder vor dem Pumpen gereinigt (abgeglüht) werden oder nicht? Das kommt ganz auf den beabsichtigten Zweck an. Will man das Wasser so erhalten, wie es zum Genuss und Gebrauch zu Tage kommt, so muss man die Reinigung unterlassen, will man aber wissen, wie das Wasser eines Orts überhaupt beschaffen ist, und hat man keine andern unmittelbarern Stellen oder Gelegenheiten für die Entnahme zur Verfügung, so muss der Auslass recht gründlich gereinigt, wenn möglich abgeglüht werden; vor dem Hineingelangen von Keimen in die Kultur, die in den von aussen nicht mehr zugänglichen Rohrteilen sitzen, sucht man sich durch 10—15 Minuten langes Laufenlassen oder Abpumpen zu schützen. Bei Röhrenbrunnen, die in Grundwasser führen, wird nach dem Vorgang von C. Fränkel (Z. 6. 23) der Pumpenkopf vom Rohre losgeschraubt, beide Teile werden erst mit einer langgestielten Bürste gründlich ausgerieben und gesäubert und schliesslich durch Eingiessung mehrerer Liter einer konzentrierten Schwefelkarbolsäurelösung desinfiziert, vorausgesetzt, dass man annehmen kann, dass das Grundwasser sich genügend rasch bewegt, wodurch das Desinfektionsmittel ziemlich rasch verschwindet.

Um allseitigen Aufschluss zu bekommen, wird es sich empfehlen, eine Entnahme zur Aussaat sogleich nach dem Ausfliessen des Wassers zu machen, um einen Vergleich mit dem Keimgehalt nach dem Abpumpen oder nach der Reinigung zu haben.

Bei offen zu Tage liegendem Wasser kann man von der Oberfläche oder aus der Tiefe entnehmen.

Die Probe von der Oberfläche wird, wenn nicht besondre Gründe anders erheischen, möglichst entfernt vom Ufer entnommen. Bei kleinern Wasserflächen wirft man ein an einen Bindfaden angebundnes sterilisiertes, vom Stopfen befreites Gefäss möglichst weit nach der Mitte zu. Damit sie untertauchen, hat man die Flaschen vor der Sterilisierung (im Dampf) mit neuen, gewaschnen Schroten gefüllt, deren Gewicht etwas grösser, als das der Wassermenge ist, die sie zu fassen vermögen (Fig. 134). Beim Herausziehen des gefüllten Fläschchens ist eine Aufwirblung von Erdreich, die besonders leicht in der Nähe des Ufers geschieht, zu vermeiden. Wasser aus Flüssen oder Seen kann von einer Brücke aus oder während einer Kahnfahrt erhalten werden.

Aus der Tiefe kann man Proben nur mit besondern Vorrichtungen gewinnen. Man hat da z. B. mit Blei beschwerte Drahtkörbe zur Aufnahme des zu versenkenden sterilisierten Fläschchens hergestellt, das mit einer durch Federgewalt aufgedrückten Gummiplatte verschlossen ist; in der gewünschten Tiefe lässt sich das Glas durch Zug an einer angebrachten Schnur öffnen und wieder schliessen. Derartige Vorrichtungen sind in verschiedner Ausführung angegeben worden, deren Besprechung hier zu weit führen würde.

Ich verweise auf die Mitteilungen von Heyroth (K. A. 7. 384). Karlinski, C. 12. 220; Hoppe-Seyler, D. 92. 386; Johnston Wyat, H. 2. 606; Sclavo, H. 3. 199; Reinsch, C. 14. 280, sowie auf Tiemann-Gärtners Werk (S. 33)*),

---

*) Tiemann und Gärtner, Die chemische und mikroskopisch-bakteriologische Untersuchung des Wassers, zugleich 3. Auflage von Kubel-Tiemann: Anleitung zur Untersuchung von Wasser. Braunschweig bei F. Vieweg & Sohn. 1889.

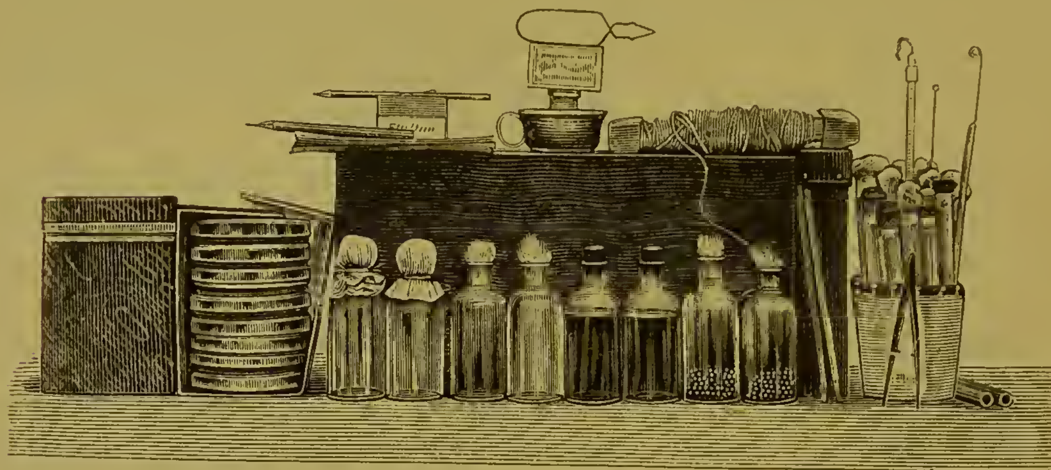
das für jeden, der sich mit Wasseruntersuchungen eingehender befassen will, unentbehrlich ist.

Ist das zu untersuchende Wasser ganz in der Nähe der Untersuchungsstelle, so genügt es, eine Probe in der erwähnten Weise in sterilisiertem Glase aufzufangen und dieses mit sterilisiertem Wattestopfen verschlossen ins Laboratorium zu verbringen, wo unverzüglich die Aussaat gemacht wird.

Ist es aber nicht möglich, die Aussaat binnen 5 Minuten, von der Entnahme an gerechnet, vorzunehmen, so muss sie an der Entnahmestelle selbst vollzogen werden.

Dazu nimmt man einen Kasten oder einen Koffer mit, den

Fig. 134.



man, wie in Fig. 134 ersichtlich, mit den vorhandnen Mitteln leicht ausrüsten kann.

Die **Ausrüstung** zur Entnahme und Aussaat an Ort und Stelle besteht aus einem Kistchen mit:

8 oder 10 Doppelschalen in einer Pappschachtel (Salicylsäureschachteln haben die geeignete Grösse) übereinander gestellt und durch einen breiten Streifen starken Papiers heraushebbar.

Zum Transport eignen sich auch Schalen, deren Seitenwand nach oben zu eingefalzt ist, so dass die Deckschale den Durchmesser der

Fig. 135.



untern nicht überschreitet; das Schalenpaar wird durch ein umgelegtes Gummiband zusammengehalten (Fig. 135).

In einer voraussichtlich übrigen Schale oder in Pergamentpapier eingeschlagen soll man eine Anzahl Blättchen sterilisierten Fliesspapiers mitnehmen, die zum Abwischen der Aussenseite etwa zu tief ins Wasser getauchter Messpipetten bestimmt sind (S. 467).

Mehrere Fläschchen zur Entnahme, am geeignetsten Medizin-

gläser von 100 ccm Inhalt, die verschlossen mit Wattestopfen im Dampf sterilisiert worden sind.

Sollen Wasserproben, die zur bakteriologischen Aussaat gedient haben, aus irgend welchem Grunde, z. B. zur mikroskopischen Untersuchung des Inhalts mit nach Hause genommen werden, so müssen Gummistopfen aufgesetzt werden; sie werden vorher im Laboratorium ausgekocht, mit geglühter Pinzette aus dem noch heissen Wasser genommen, im Trockenschrank bei etwa 50° getrocknet und, ohne die untre Fläche zu berühren, an Stelle des Wattestopfens fest ins sterilisierte Glas eingedreht. Der herausgenommene Wattepfropf kann über den Gummistopfen gebreitet werden; schliesslich wird ein Stückchen Leinwand darüber gebunden.

Gelangt voraussichtlich sehr verunreinigtes Wasser zur Untersuchung, so sieht man sich noch mit Fläschchen vor, die mit 100 ccm Wasser gefüllt und mit Wattestopfen bedeckt, ½ Stunde im Dampf sterilisirt worden sind. Nach der Sterilisierung und Abkühlung ersetzt man den Wattestopfen wie oben durch Gummiverschluss. An Ort und Stelle gibt man 1 ccm des zu untersuchenden Wassers hinein (S. 467), schüttelt ordentlich durch und nimmt mit einer andern keimfreien Pipette ½ und 1 ccm zur Aussaat in Nährgelatine.

Zur Entnahme aus Flüssen u. dgl. versieht man sich mit Fläschchen, die mit etwa 120 g Schrot gefüllt und im Dampf entkeimt sind, dazu mit einer langen Schnur, woran sie bei der Füllung gebunden werden.

Eine Anzahl sog. Wasserpipetten mit zwei Marken (1 ccm in ¹/₁₀ Teile geteilt) zusammen in einer Blechbüchse trocken sterilisiert. Auf dem Grund der Büchse, gegen den die Ausflussspitzen der Messröhrchen gerichtet sein müssen, hat man vorsichthalber Glaswolle gelegt und mitsterilisiert.

Reagensröhrchen mit Nährgelatine bedarf man in grössrer Anzahl, als Doppelschalen, nicht bloss um bei etwaigem Misslingen einer Probe nicht Mangel zu haben, sondern auch um allenfalls Rollplatten anlegen zu können, wenn die Schalen nicht mehr ausreichen. Zum Einstellen der Röhrchen nimmt man ein grösseres Gefäss mit.

Um während der Aussaat die Wattestopfen nicht zwischen den Fingern halten zu müssen, versorge man sich mit einer Klemmpinzette mit nach aufwärts gerichteten Enden (Fig. 29a) oder einer Cornetschen Pinzette, denn der Wattestopfen muss noch nach dem Ausgiessen des Röhrcheninhalts in die Doppelschale zum keimfreien Verschluss dienen, um die im unvermeidlichen Gelatinerest keimenden Kolonien später bei der Zählung nicht zu verlieren.

Ein Thermometer ist unerlässlich, da von jedem geprüften Wasser eine Wärmebestimmung aufgezeichnet werden muss. Es wird in einer Papphülse verpackt. (Bei Entnahmen aus der Tiefe bedarf man eines v. Pettenkoferschen Schöpfthermometers, das sich mit wenig Umständlichkeit ersetzen lässt, wenn man die Quecksilberkugel eines gewöhnlichen Thermometers mit einer dünnen Schichte Wachs umgibt; dann verändert sich die Quecksilbersäule beim Temperaturwechsel erst

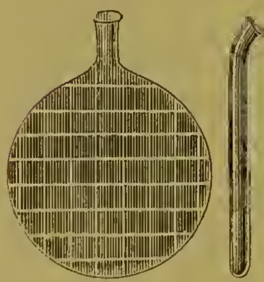
nach 8—10 Minuten [Karliński]; freilich muss man das Thermometer mindestens ebensolange in der Tiefe des Wassers lassen.)

Eine Spirituslampe nebst Streichhölzern, eine Schachtel mit Etiketten, ein Bleistift, ein Stift zum Schreiben auf Glas und ein Notizbuch vervollständigen die Ausrüstung. Ausserdem kann man noch einige Gummikappen für Rollröhrchen und eine Platinöse mitnehmen, diese zur bequemern Prüfung, ob die ausgegossne Gelatine bereits erstarrt ist.

Die beschriebne Ausrüstung ist die einfachste. Wem die Mittel zu Gebote stehen, der kann sich die Kiste und Einrichtung eleganter machen lassen. Vorteilhaft würde es sein, wenn dann das Gefäss zur Aufnahme der Doppelschalen für den Sommer mit Kühlvorrichtung versehen wäre. Král hat dazu eine ihrer Grösse entsprechende Blechbüchse mit Einsatz zum Herausheben der Schale machen lassen. Sie ist oben mit Watte und Deckel verschlossen und steht in einer mit Tragbügel versehenen grössern, mit Eis gefüllten Büchse. (Prager med. W. 91. 481.)

Andrerseits lässt sich auch noch eine Vereinfachung durch Verwendung der flachen Kulturfläschchen nach v. Rozsahegyi erzielen. Mit 10 ccm Nährgelatine gefüllt und sterilisiert, ersparen sie die gesonderte Mitführung von Doppelschalen und Gelatineröhrchen, die aber in jedem Falle vorzuziehen ist. Ich erwähne die Fläschchen nur für den Untersucher, der fern von einem wohlausgerüsteten Laboratorium mit den möglichst einfachen Mitteln arbeiten muss. Sie haben auf einer Fläche eine eingeritzte Teilung in Quadratzentimeter, wodurch ein Zählapparat überflüssig wird. Ihr Hals soll, was in Fig. 136 durch eine Querschnittansicht gezeigt ist, nach aufwärts stehen, damit die verflüssigte und mit der Wasserprobe versetzte Gelatine beim Hinlegen des Röhrchens nicht an den Wattepfropf fliessen kann. Da ihr Dickendurchmesser kein übermässiger ist, so ist eine Besichtigung unterm Mikroskop ermöglicht. Leider werden sie oft von den Fabrikanten so dünnwandig geliefert, dass das Arbeiten mit ihnen mit der Zeit sehr teuer kommt. Unbrauchbar sind solche Fläschchen, die nur zur Hälfte der Oberfläche mit Quadratteilung versehen sind. Die Kölbchen gestatten nur bis zu einem gewissen Grade ein Eingehen mit der Platinnadel zur sichern Abimpfung. Besser sind dafür feldflaschenähnliche Gefässe mit etwas weiterm Halse, wie sie Petruschky (C. 8. 609) angab.

Fig. 136.



Uebrigens wurde eine ganze Anzahl von Kölbchen, Flaschen, Doppelschalen zu Kulturzwecken angegeben, und verweise ich auf meinen zusammenfassenden Bericht im C. 10; sowie auf Král (s. o.), zumal da man mit den erwähnten Schalen oder Flaschen für die Zwecke der Wasseruntersuchung völlig ausreicht. Stehen auch solche nicht zur augenblicklichen Verfügung, so erübrigt immer noch die Anlegung von Rollplatten, die sich aber gerade hier, wegen der so häufig vorkommenden verflüssigenden Arten, weniger eignen.

An Untersuchungstationen, die als Zentralstellen für grössere Be-

zirke gelten, tritt nicht selten die Aufgabe heran, Wasser von meilenweit entfernten Orten zu prüfen. Dem oft geäusserten Verlangen, die Keimzahl in einem von auswärts eingesandten Wasser zu bestimmen, kann bloss mit der ausdrücklichen Betonung entsprochen werden, dass eine solche Mengenbestimmung hier gar keinen Wert hat. Denn während der Dauer des Transports ist den Wasserbakterien eine unberechenbare Gelegenheit zur Vermehrung geboten; auch von Natur aus keimarme Wässer werden danach ganz erhebliche Bakterienmengen enthalten. Dagegen schützt selbst keine Eispackung. Ist schon bei 0° vielen Keimen die Vermehrungsfähigkeit noch eigen, so ist das bei jedem Grade mehr, noch in ausgedehnterem Masse der Fall. Dazu ist es kaum möglich, den Inhalt einer Sendung im Hochsommer auch nur annähernd auf 0° zu bringen, geschweige denn dabei längere Zeit zu halten. Zeigen doch unsre Eisschränke im Innern meist noch eine Wärme von 7°.

Liegt wirklich — was selten der Fall sein dürfte — alles daran, einen Aufschluss über die Keimmenge des Wassers zu bekommen, so muss ein Sachverständiger, ausgerüstet mit den notwendigsten Laboratoriumseinrichtungen, an Ort und Stelle hinreisen.

Dazu sind aber grössere Reiseausrüstungen nötig, als die S. 462 genannte ist. Im Anschluss an die Choleraexpedition nach Aegypten und Indien und auf Grund von Erfahrungen bei Entsendungen von Sachverständigen nach Orten des Inlandes ist von A. Heyroth im Kaiserlichen Gesundheitamte eine solche Ausrüstung zusammengestellt worden, die in äusserst geschickter Gruppierung alle nötigen Apparate enthält. Die umfassend ausgestatteten Kasten sind vielleicht den Besuchern der Ausstellung des X. internationalen medizinischen Kongresses in Berlin noch erinnerlich (Verhandlungen 1. 339 und K. A. 7. 384).

Die Militär-Medizinalabteilung des k. pr. Kriegsministeriums hatte bei der gleichen Gelegenheit (Verhandl. 1. 330) bakteriologische Untersuchungskasten für den Frieden, wie für den Krieg ausgestellt, die nunmehr bei den Untersuchungstellen der deutschen Armeecorps eingeführt sind.

Ein ganz ähnlich eingerichteter, ebenfalls recht umfassend ausgestatteter, nicht zu umfangreicher Kasten zur Vornahme von Untersuchungen ausserhalb des Laboratoriums für Kreisphysiker und Aerzte ist von Wöffler, Portier am hygienischen Institut in Berlin (C. Klosterstr.) zusammengestellt worden und von ihm um den Preis von 128 M. zu beziehen.

Bei derartigen Kasten ist das Mikroskop nicht miteingenommen; es muss eigens in besondrer Lederumhüllung bei der Reise mitgeführt werden. Diese Kasten dienen überhaupt und in erster Linie der Erforschung von Krankheitsursachen ausserhalb des Laboratoriums, nicht bloss der Wasseruntersuchung allein.

Man vergesse bei der Ausrüstung nicht, eine Anzahl abgeteilter Pulver zu je 2 g aus gleichen Teilen Witteschen Peptons und Kochsalzes mitzunehmen, um die Untersuchung grössrer Mengen Wassers auf Choleravibrionen in der von mir angegebnen Weise (S. 456) vornehmen zu können.

Erfordern nicht grade eine Epidemie oder sonstige Umstände die Herbeirufung eines mit bakteriologischen Untersuchungen vertrauten Arztes, so genügt es, Proben zur qualitativen Untersuchung auf bestimmte Bakterien (meist werden es Typhus- oder Cholerabakterien sein) an die Zentralstelle einzusenden. Am geeignetsten bestellt man von dort die nötigen sterilisierten Gläser. Der Besteller hat bei der Wasserentnahme darauf zu achten, dass der Gummistopfen an dem Teil, womit er das Glas berührt, nicht mit den Fingern angefasst wird, noch sonst mit einem Gegenstande in Berührung kommt, und dass er nur so lange, als die Entnahme dauert, gelüftet sein soll. Auch hier kann ich auf Grund von missliebigen Erfahrungen (andrer) die Warnung nicht unterlassen: man spüle nicht im Uebereifer die Gläser in der Absicht, sie zu sterilisieren, mit Sublimatlösung u. dgl. aus, das würde jede bakteriologische Untersuchung vereiteln!

Einer Füllungsmethode von Flügge und Heraeus (Z. 1. 201) möchte ich noch gedenken, wie sie mitunter verwendet wird, so von A. Pfuhl (C. 8. 645): Flaschenförmige Gefässe aus leicht schmelzbarem Glase mit rechtwinklig umgebogner und ausgezogner Spitze werden zur Austreibung der Luft erhitzt, an der Spitze abgeschmolzen und in einer passenden Metallkapsel verpackt. Am Ort der Entnahme muss die Spitze unter Wasser abgebrochen werden, worauf das Wasser in den luftleeren Raum stürzt. Nach abermaliger Abschmelzung der Spitze wird das Gefäss an die Untersuchungstelle zurückgeschickt.

Die **Aussaat** für die Keimzahlbestimmung muss, wie mehrfach hervorgehoben, unmittelbar der Entnahme folgen.

Vorher hat man sich bereits einen Plan über die Menge des auszusäenden Wassers gemacht. Einen richtigen Einblick kann man erst durch wiederholte Versuche gewinnen, die ersten dienen mehr zur Orientierung. Am besten macht man jedesmal zwei Aussaaten, damit eine die andre kontrolliere. Bei keimarmen Wässern benützt man für jede Aussaat 1 ccm, oder selbst mehr, z. B. 2 und 1 ccm, bei keimreichen 1/2 und 1 ccm oder weniger.

Die Abmessung erfolgt für gewöhnlich mit den Wasserpipetten, etwa 18 cm langen, spitz zulaufenden Glasröhren von starker Wand und eng im Lichten, damit sich die Teilung — 1 ccm in 1/10 Teile zwischen zwei Marken — möglichst auseinanderziehen lässt, wodurch die Ablesung erleichtert wird. Eine grössere Anzahl der Pipetten soll stets in Blechbüchsen von geeigneter Form sterilisiert vorrätig sein. Die Pipetten kommen mit der Ausflussöffnung nach unten in die Blechbüchse, auf deren Boden sich Glaswolle befindet. Bei der Herausnahme der sterilisierten Pipetten wird ebenso vorgegangen, wie bei der von Kulturplatten (Fig. 63 und 64 S. 106). Berührt darf nur eine Pipette werden, die sofort herausgenommen wird. Sind bei raschem Bedarf keine vorrätig sterilisierten Pipetten vorhanden, so kocht man die nötige Zahl in einem Topf aus, der so weit ist, dass sie sich ganz ins Wasser legen lassen; sie ruhen dabei auf einem durchlochten Einsatze.

Bei der Abmessung sind einige Vorsichtsmassregeln zu beachten. Der obere Rand der Pipette und der Zeigefinger, womit ihre Oeffnung zugehalten wird, müssen beide ganz trocken sein. Zur Füllung taucht man die Spitze der Pipette nicht tief ins Wasser und saugt sachte, bis die Flüssigkeit 1—2 cm über dem obersten Teilstriche steht. Dann verschliesst man die Mündung rasch mit dem Finger, hält die Pipette

senkrecht in die Höhe des Auges und lässt durch vorsichtiges Nachlassen des Fingerdrucks so lange Tropfen für Tropfen ausfliessen, bis der dunkle Meniskus am obersten Teilstriche angelangt ist. Während man den schon vorhin durch Drehung gelüfteten Wattestopfen des Reagensglases zwischen Zeige- und Mittelfinger, das Reagensglas selbst zwischen dem Daumen und den beiden letzten Fingern der linken Hand hält, lässt man die beabsichtigte Wassermenge in die bei 40° verflüssigte Nährgelatine tropfen und setzt dann den Wattestopfen wieder auf.

Gewöhnlich sät man 1 ccm und in ein andres Röhrchen ½ ccm des Wassers aus. Die Pipette bleibt für beide Aussaaten dieselbe, wenn nicht zufällig eine Verunreinigung (Berührung u. dgl.) drangekommen ist. Man zählt aufmerksam ab, wie viel Tropfen auf 1 ccm gehen und sieht dann bei der zweiten Abmessung weniger auf die aussen angebrachten Teilstriche, als auf die Tropfenzahl.

Fehler entstehen leicht, wenn die Pipette tief ins Wasser getaucht wurde, weil dann aussen anhängende Tropfen mit der abgemessnen Menge in die Aussaat kommen können. Man vermeidet sie dadurch, dass man, solange die Flüssigkeit noch über dem obersten Teilstriche steht, also ehe der Meniskus eingestellt ist, die Aussenseite der Pipette mit sterilisiertem Fliesspapier oberflächlich trocknet. Solches soll bei derartigen Untersuchungen stets zur Hand sein. 5 bis 10 cm grosse, einzeln geschnittne Blättchen werden in einem Doppelschälchen oder in Pergamentpapierumhüllung im Dampfe sterilisiert, vorrätig gehalten.

Um recht geringe Menge zur Aussaat bringen zu können, hat Gabritschewsky (C. 10. 248) ein eignes Kapillarrohr von C. Fuchs (München, Schillerstr. 11) herstellen lassen, das am obern Ende nach der Sterilisierung und kurz vor der Entnahme mit einem Gummischlauch und darauf sitzender Schraubenklemme versehen wird. Bei geöffneter Schraube wird unter Vermeidung der Eindringung von Luftblasen von der zu untersuchenden Flüssigkeit entnommen, das Rohr aussen vorsichtig abgetrocknet und durch Anziehung der Schraube die gewünschte Menge zur Aussaat gebracht. Es ist eine Abmessung bis zu 0,001 ccm ermöglicht. Bei Wasseruntersuchungen ist meiner Ansicht nach die 100fache Verdünnung der sehr keimreichen Flüssigkeit mit sterilisiertem Wasser bequemer und birgt zum mindesten nicht mehr Fehler in sich, wie die Abmessung so sehr kleiner Mengen mit einem Kapillarrohr.

Die Verdünnung wird in der S. 463 angegebnen Weise von 1 ccm der Wasserprobe mit 100 ccm sterilisierten Wassers vorgenommen. Wer ganz peinlich arbeiten will, nehme mit der Pipette unter Zählung der Tropfen erst 1 ccm des sterilisierten Wassers aus der Flasche und träufle dann mit derselben Pipette ebensoviel von dem zu untersuchenden Wasser hinein. Nach Aufsetzung des vor Verunreinigungen geschützt, unterdessen beiseite gestellten Gummistopfens wird gründlich geschüttelt. Trotzdem wird es dadurch nicht vollständig gelingen, die einzelnen Bakterienverbände auseinanderzubringen oder gar von den schwebenden Teilen, woran sie haften, einzeln loszureissen. Man kann sich davon leicht überzeugen, wenn man zur Kontrolle noch ein oder mehrere Aussaaten mit denselben Mengen oder bestimmten Teilen von ihnen, z. B. ½ und ¼ ccm, anlegt; die nach erfolgtem Wachstum vorgenommene Zählung wird immer grössere oder geringere Unterschiede erkennen

lassen. Das macht sich schon bei keimarmen Wassern geltend (S. 470), wie viel mehr noch bei bakterienreichen. Ueber diese Fehlerquellen kommen wir nie ganz weg, jedenfalls aber besser mit der Verdünnung, als mit der unmittelbaren Aussaat eines sehr kleinen Bruchteiles des unverdünnten Schmutzwassers.

Die besäte Probe wird auf Platten oder in Doppelschälchen gegossen oder in Fläschchen, z. B. Rozsahegyischen, ausgebreitet oder in möglichst weiten Gläsern zu Rollplatten verarbeitet, ohne den Wattestopfen zu benetzen. Wichtig ist, dass die Nährbodenschichte überall gleich dick oder besser gesagt gleich dünn wird, weshalb auch die Schalen möglichst wagrecht gestellt werden müssen, damit die spätere Zählung und Berechnung keine Beeinträchtigung erleide. Beim Ausgiessen auf gewöhnliche Platten (über einer Kühlvorrichtung!) achte man auf thunlichst geraden Ausstrich der Ränder und vermeide die Entstehung von Einbuchtungen, die für die genaue Berechnung des Flächeninhaltes der Kulturschichte hinderlich wären. Während wir sonst den Wattestopfen und das ausgeleerte Reagensröhrchen in einen Topf mit Wasser zum Auskochen zu legen pflegen, setzen wir hier den einstweilen von einer Klemmpinzette gehaltnen, vor anderweitiger Berührung geschützten Wattestopfen nach dem Ausgiessen wieder an seine frühere Stelle und bewahren das Reagensgläschen, mit Aufschriftzettel versehen, bis zur Zählung auf, weil unvermeidlich stets ein Restchen des Nährbodens an den Wänden haften bleibt, dessen allenfallsigen Keimgehalt man bei der Zählung nicht unberücksichtigt lassen darf; er kommt vornehmlich bei keimarmen Wassern in Betracht.

Was die Wahl des Nährbodens betrifft, so eignet sich zur Mengenbestimmung keiner besser, als die Nährgelatine, die mangels des beim Agar so lästigen Schwitzwassers die sicherste Trennung der Keime gewährleistet. Als weiterer Vorteil ist die Möglichkeit der Unterscheidung verflüssigender und fest lassender Ansiedlungen zu nennen. Ferner können wir der Agargallerte um so eher entraten, als die eigentlichen Wasserbakterien ihre besten Bedingungen bei Zimmerwärme finden, und von den die Körperwärme bevorzugenden Kleinwesen, die im Wasser vorkommen können, die meisten auch auf Gelatine zu gedeihen vermögen. Alle im Wasser vorhandnen Kleinwesen in unsern Gelatineplatten zur Erscheinung zu bringen, darauf müssen wir von vornherein Verzicht leisten. Grade beim Wasser können wir uns davon leicht überzeugen; das Spirillum undula z. B., das sich bei der mikroskopischen Durchmusterung eines Tröpfchens Wassers von faulenden Pflanzenresten so leicht nachweisen lässt, weil es oft in grosser Zahl auftritt, werden wir vergeblich unter den auf der Platte wachsenden Ansiedlungen suchen. Wie bei den Untersuchungen des Darminhalts, der Luft, des Bodens müssen wir auch hier stillschweigend den Begriff: Mengenbestimmung der Keime durch den Relativsatz ergänzen, die auf Gelatineplatten bei Zimmerwärme und bei Luftzutritt wachsen.

Wenn es auch schwer möglich ist, Ergebnisse mit unsern Hilfsmitteln zu erzielen, die mit den an andern Orten und zu andern Zeiten gewonnenen einwandfrei vergleichbar sind, so müssen wir doch dieser

Aufgabe thunlichst gerecht zu werden versuchen. In erster Linie ist es daher erforderlich, für die Mengenbestimmung der Keime im Wasser gleichmässig zusammengesetzte und bereitete Nährgelatine zu benützen.

Schon die Verwendung des Fleischwassers bedingt gewisse Unterschiede. Man sollte darum die Untersuchungen mit einem allerorts möglichst gleich zu habenden Nährmittel anstellen, etwa mit 1% Fleischextrakt. Dann müsste man sich — eine Einigung wäre etwa auf einem Kongresse zu erzielen — einer von bestimmter Quelle bezognen Gelatine und eines ebensolchen Peptons bedienen, wobei der Umstand, dass selbst die nämliche Fabrik nicht jederzeit das gleiche Fabrikat liefert, als misslich nicht zu verkennen, immerhin aber nicht sehr schwerwiegend ist. Endlich — und das ist die Hauptsache — müsste die Neutralisierung und Alkalisierung der Nährgelatine stets in derselben Weise mit denselben Mitteln und bis zu einem genau bestimmten Grade vorgenommen werden. Ob die von Reinsch und Dahmen (C. 10. 415 und 12. 302) unabhängig voneinander herausgebrachte Alkalisierung mit 1% Normallauge wirklich die meisten Keime zur Entwicklung kommen lässt, müssen weitere Beobachtungen lehren.

Für vergleichende Untersuchungen ganz besonders einschneidend ist die Temperatur und die Dauer bei der Züchtung. Die Gegenwart rasch überwuchernder verflüssigender Keime bringt einen nie zu beseitigenden Missstand mit sich und bedingt oft eine zu frühzeitige Unterbrechung der Beobachtung.

Um den Grenzen der Möglichkeit nahe zu kommen, soll bei allen Wasseruntersuchungen bemerkt werden:

1. An welchem Tage und am wievielten nach der Aussaat die Untersuchung angestellt ist.

2. Wie lange Zeit bis zur endgültigen Zählung verstrichen ist.

3. Welche Durchschnittswärme in dieser Frist geherrscht hat, und welches die niedrigsten und die höchsten Wärmegrade waren.

Am besten ist dabei ein auf bestimmte Wärme von 22° oder darunter eingestellter Schrank. Die Einhaltung dieser Temperatur lässt sich im Winter verhältnismässig leicht, schwieriger im Sommer bethätigen. Wenn ein derartig temperierter Raum nicht zur Verfügung steht, muss man die Wasserplatten im Hochsommer oft sogar in den Keller verbringen.

Das sind lauter missliche Dinge, über die sich manchmal schwer hinwegkommen lässt, wenn man Zahlen haben will, die mit anderweitig erhaltnen gut vergleichbar sein sollen. Damit ist aber die Reihe der Fehlerquellen nicht erschöpft. Gerade die meisten Fehler unterlaufen bei der

Zählung der Keime.

Schon vorhin gedachte ich der unvermeidbaren Unrichtigkeiten bei den vorbereitenden Massnahmen. Grade bei keimarmen Wassern kann man sehen, wie wenig das Ergebnis einer Aussaat mit dem einer sofortigen andern übereinstimmt. Hat man z. B. Gelatineschalen mit ½ und 1 ccm Wasser gegossen, so wird man in den seltensten Fällen

genau dieses Verhältnis bei der Keimzählung erhalten, ja manchmal gehen von der ersten Aussaat fast ebensoviele Kolonien auf, wie von der zweiten.

Bei keimreichern Wassern fällt der Umstand sehr in die Wagschale, dass sich auf den dichter besäten Platten im Verhältnis überhaupt weniger Keime entwickeln können, wie auf den dünner besäten, wo die einzelnen Ansiedlungen sich durch ihre gegenseitigen Stoffwechselprodukte weniger stören können.

Die Fehlerquellen können wir in folgenden vier Punkten zusammenfassen:

1. Ungleichmässige (natürliche) Verteilung der Keime im Wasser.
2. Schwierigkeit der Aussaat durchaus ganz genauer Mengen.
3. Gegenseitige Behinderung des Bakterienwachstums auf dichter besäten Platten.
4. Subjektive Fehler, die bei der Zählung der angegangnen Kolonien gemacht werden, und die oft gar nicht zu vermeiden sind.

Ehe wir uns mit dem Wie? beschäftigen, noch die Frage:

Wann soll gezählt werden? Wenn die Platten reif sind, d. h. wenn soviel Kolonien als möglich auf ihnen erschienen sind. Leider ist man gezwungen, oft an unreifen Platten eine endgültige Auszählung vorzunehmen, wenn verflüssigende Ansiedlungen oder überwuchernde Schimmelpilze die ganze Ernte zu vernichten drohen. Verflüssigende Kolonien lassen sich zwar in ihrem Vordringen etwas eindämmen, wenn man das Verflüssigte vorsichtig absaugt und Sublimatlösung an die Stelle bringt, allein entweder frisst die Bakterienart trotzdem weiter, oder man vergiftet die ganze Umgebung in kleinerm oder grösserm Umkreis. Versuchen kann mans ja, aber man unterlasse dann nicht, gleichzeitig eine Auszählung vorzunehmen.

Ein endgültiges Ergebnis lässt sich nicht auf einmal erreichen. Wo es auf eine genaue Feststellung der Keimzahl ankommt, muss mehrmals gezählt werden. Wenn es die Umstände nicht anders fordern — was durch tägliche Besichtigung unter Verhütung von Verunreinigungen durch Luftkeime erkenntlich ist — macht man die erste Auszählung nicht vorm 3. oder 4. Tage und lässt in ein- oder zweitägigen Zwischenräumen andre folgen. Dann stellt sich bald heraus, ob noch nennenswert mehr Keime zu erwarten sind, oder ob man die Ernte als reif ansehen kann. Die mehrfachen Zahlenbestimmungen kontrollieren sich und schützen vor Irrtümern; die letzte ist die endgültige, ein Mittelwert darf selbstverständlich nicht gezogen werden.

Und nun: Wie soll gezählt werden? Wo angängig, wird jede Kolonie einzeln gezählt, nur wenn die Keimzahl allzugross ist, darf man sich auf die Berechnung von Durchschnittwerten einlassen.

Die Ausführung und Berechnung gestaltet sich verschieden, je nachdem man Platten, Schalen, Fläschchen oder Röhrchen auszuzählen hat.

Die Auszählung von Platten geschieht mit Hilfe eines Zählnetzes. Vom Drucker oder vom Lithographen kann man sich Blätter

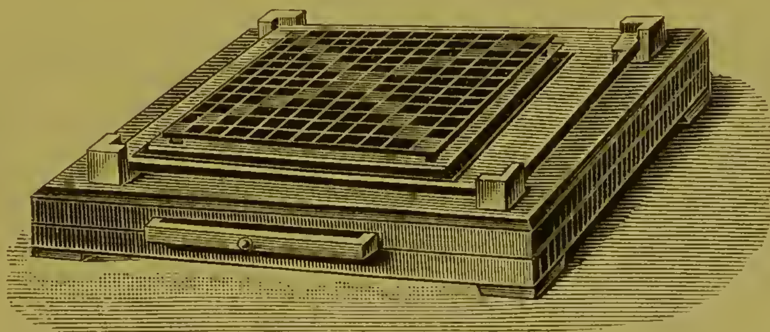
von der ungefähren Grösse einer Kulturplatte (9 × 13 cm) mit weissen Linien auf schwarzem Grund herstellen lassen; die Linien müssen genau 1 cm voneinander entfernt sein und sich rechtwinklig schneiden, so dass jedes Feld 1 qcm gross ist. Ein solches Blatt wird unter eine grössere Glasplatte gelegt, auf der die Kulturplatte liegt. Zum Schutz vor Luftkeimen bedarf man noch einer quadratischen Glasplatte von 17 cm Seitenlänge, die auf vier ½—¾ cm hohe Holzklötzchen über die Kulturplatte gelegt wird. Eine Lupe ist als drittes Stück notwendig, um über zweifelhafte Dinge entscheiden oder kleine Ansiedlungen noch erkennen zu können.

Besser ist es, man hat eine Glasplatte mit eingeritzter Teilung. Wolffhügel hat eine solche angegeben; die in den Diagonalen gelegnen Quadrate sind nochmal in 1/9 Quadrate geteilt. Es wäre zweckmässiger, wenn etwa jedes andre Quadrat (entsprechend den schwarzen Feldern des Schachbrettes) in solch kleinere Abteilungen zerlegt wäre, da man sehr oft in die Lage kommt, sich ihrer zu bedienen; und für noch vorteilhafter würde ich es erachten, wenn an einer weitern Anzahl von 1/9 Quadraten eine feinere Teilung angebracht wäre. Man kann sie, wenn man ein recht schwaches Objektiv besitzt (z. B. Seibert Nr. 0), zur Zählung unterm Mikroskop benützen, indem man die Kulturplatte auf das Zählnetz legt; die Teilstriche sind bei genügend scharfer Einstellung der Kolonien eben noch gut wahrzunehmen.

Bei der Auszählung mit blossem Auge oder mit der Lupe muss die Kulturplatte immer auf einem schwarzen Untergrunde (einer Schiefertafel) liegen, wodurch die hellen Kolonien deutlich hervortreten.

Der in Fig. 137 wiedergegebne Wolffhügelsche Zählapparat besteht aus einem Holzgestell mit Schublade zur Aufbewahrung von

Fig. 137.



6 Unterlagklötzchen (Dambrettsteinen), einer mattschwarzen Einlage auf der Oberfläche und 4 an den Ecken angebrachten Pflöckchen, in deren Ausschnitten eine quadratische Glasplatte von 17 cm Seitenlänge ruht, die die schwarze Fläche vor Verunreinigungen durch etwa ablaufende Gelatine schützt. Darauf wird die Kulturplatte gelegt und rings um sie die Dambrettsteine, die die Zählplatte tragen sollen. Bei Verwendung von Kulturschalen kann die untere Glasplatte wegbleiben, man stellt die Schale ohne Deckel unmittelbar auf die schwarze Unterlage und deckt die Zählplatte darüber.

Ehe man zu zählen beginnt, wird die Gelatineschichte unter der Zählplatte so gerichtet, dass sie möglichst scharf auf eine Reihe von Quadraten einsteht; bei Platten soll sich wenigstens eine ihrer Lang-

und Breitseiten mit einer horizontalen und vertikalen Reihe von Quadraten an den Rändern decken.

Zur Abzählung nimmt man ein gitterförmig liniertes Papier, worauf ebensoviele Quadrate abgegrenzt und randständig numeriert werden. Dann wird jedes einzelne Quadrat der Platte ausgezählt und das Ergebnis in die entsprechende Rubrik des Notizblattes eingetragen. Verflüssigende Ansiedlungen und solche von Schimmelpilzen können eigens bezeichnet werden. Ein einfaches Beispiel habe ich im folgenden wiedergegeben:

Wasser Nr. x. 1 ccm ausgesät am 10. IX. 91.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	—	—	2	3	—	1	2	1	—	1	—
2	—	3	1	—	1	3	4	—	3	3	2
3	1	3	2	1	2	1	2	3	2	—	—
4	1	1	1	3	—	2	2	1	2	1	3
5	—	2	2	1	1	3	1	3	2	4	1
6	—	3	1	1	—	3	—	3	—	2	—
7	—	3	—	—	2	1	—	—	2	1	4
	2	15	9	9	6	14	11	11	11	12	10

Summe 110 Ansiedlungen. 14. IX. 91.

Bei etwas keimreichern Platten beginnen aber bereits die Schwierigkeiten. Die dichter besetzten Felder geben leichter zu Irrungen Anlass. Viele Ansiedlungen sieht man derart an der Grenze der Quadrate, dass man nicht recht schlüssig wird, zu welchem man sie zählen soll; blickt man nicht ganz gerade durch die Lupe, so verschiebt sich die Kolonie scheinbar nach dem seitlich gelegnen Quadrate und bei einer andern Blickrichtung kommen Grenzkolonien der Nachbarfelder in das eben auszuzählende Viereck. Grosse oder verflüssigte Ansiedlungen werden zu dem Felde gerechnet, wo ihr grösster Teil liegt. Man beachte aber, dass sie einen Bezirk der Gelatine einnehmen und dabei vielleicht andre kleinere Keimlinge verdecken.

Noch grössere Keimmengen lassen überhaupt bloss Annäherungswerte zu. Man zählt nur einzelne Felder aus, etwa die diagonal auf der Zählplatte befindlichen. Aus mehreren — wenigstens zehn — zieht man das Mittel. Dann muss der Flächeninhalt der ganzen Gelatineschichte bestimmt werden. Die welligen Begrenzungslinien rechnet man zunächst nicht mit, sondern schätzt ab, wie viel jedes Grenzquadrat davon erhält und addiert die einzelnen Bruchteile. Die Summe dieser Bruchteile zählt man schliesslich zum vorhin erhaltnen Produkt aus Länge mal Breite. Haben wir so z. B. 79 qcm Gelatinefläche berechnet und als durchschnittlichen Keimgehalt 80 Ko-

lonien herausgebracht, so würde sich die Gesamtkeimzahl auf 6320 belaufen, wobei willkürlich angenommen wird, dass ungefähr in allen Feldern die annähernde Kolonienzahl vorhanden ist, was aber häufig nicht stimmt.

Vollends wird aber unsre Ansicht von der annähernden Richtigkeit einer mit blossem Auge, sogar einer mit Zuhilfenahme der Lupe ausgeführten Zählung gründlich umgestimmt, wenn wir eine dicht bewachsne Platte unters Mikroskop bringen. Da werden Kolonienpaare, selbst Gruppen gefunden, die vorhin als eine einzige Ansiedlung angesehen wurden, und neue, junge Kolonien kommen zu Gesicht, die selbst mit der Lupe nicht erkenntlich waren, sei es, dass sie frei lagen oder inmitten der Oberflächenausbreitung einer schneller gedeihenden Ansiedlung.

Darum soll man dichter bewachsne Platten von vornherein unterm Mikroskop betrachten, und sogleich darunter zu zählen versuchen. Wer das Seibertsche Objektiv 0 mit dem Okular 0 besitzt, wird bemerken, dass grade $^1/_9$ qcm im Gesichtsfeld Platz hat; man legt deshalb die Zählplatte unter die Kulturplatte, muss aber, um sie festzuhalten, eine Unterlage von der Höhe des Objekttisches zur Unterstützung nebenhin stellen oder die Platte mit Bleiklötzchen beschweren. Nach der Auszählung verschiebt man bloss die Kulturplatte über der Zählplatte und zählt wieder u. s. f.

Stehen aber die Kolonien sehr dicht, so ist es unmöglich, $^1/_9$ qcm auszuzählen. Dafür sollten eben Quadrate mit nochmaliger feinerer Teilung vorgesehen sein.

Noch besser kommt man aber zum Ziel, wenn man sich dem Auge Anhaltepunkte durch ein ins Okular eingelegtes Zählnetz verschafft, dessen Teilung beim Hineinsehen ins Gesichtsfeld entworfen wird. Diese Einlagen müssen in das schwächste Okular kommen, das mit einem Diaphragma versehen ist, um das Zählnetz auflegen zu können; bei Seibert ist dies bei Okular I der Fall. Während Buchner ein doppeltes Fadenkreuz nahm (C. 2. 1), zog ich es vor, eine Teilung in abwechselnd stärkern und schwächern Linien im Abstande von 1 mm fertigen zu lassen. Die Teilung muss die ganze Oberfläche des Glasplättchens bedecken, nicht bloss in der Mitte eingeritzt sein!

Wie gesagt, dient sie dem untersuchenden Auge nur als Anhaltepunkt bei der Auszählung der im Gesichtsfelde vorhandnen Ansiedlungen. Um die Keimzahl auf der Gelatineplatte berechnen zu können, muss die Grösse des Gesichtsfeldes bekannt sein.

Dazu bedarf man eines sog. Objektmikrometers, am besten eines mit 10 mm-Teilung, wovon das letzte mm in $^1/_{10}$-Teile geteilt ist. Nicht nur bei jedem Objektiv, sondern auch bei jedem Okular wird der gefundne Wert verschieden vom andern sein. Hat man durch Ausmessung die Grösse des Gesichtsfelds (z. B. bei Seibert, Objektiv 0, Okular I) auf 3,3 mm festgestellt, so berechnet sich nach der Formel $r^2\pi$ die Grösse des Gesichtsfeldes auf $\left(\frac{3,3}{2}\right)^2 . 3,1416 = 8,553$ qmm.

Bei der Auszählung sollen verschiedne und möglichst viele, aber wenigstens 10—20 Gesichtsfelder der Reihe nach vorgenommen werden. Man wähle die Felder nicht absichtlich aus, sondern verschiebe die Platte aufs Geratewohl und blicke dann erst in das Mikroskop, um zu

zählen, sonst begeht man leicht den Fehler, besonders dicht oder besonders dünn besäte Stellen herauszusuchen, oder Stellen, worin nur ein paar Kolonien zu sehen sind, ausser acht zu lassen, wodurch die Gewinnung eines richtigen Mittelwerts fraglich wird. Ist dieser aus den einzelnen Zählungen gezogen, so lässt sich die ungefähre Keimzahl der Platte leicht berechnen, wenn man erst den Flächeninhalt der Gelatineschicht mit dem für die Grösse des Gesichtsfelds gefundnen Wert dividiert und den erhaltnen Quotienten mit jenem Mittelwert von 10—20 Auszählungen multipliziert.

Die Auszählung von Schalen erfolgt nach denselben Grundsätzen, wie die der Platten. Durch den Wegfall ungleichmässiger Randzonen der Gelatine wird sie sogar noch etwas genauer. Die Berechnung der Keimzahl von Schalen, bei denen sich die zu dicht stehenden Ansiedlungen nicht mehr einzeln mit Hilfe der übergelegten Zählplatte auszählen lassen, ist einfach.

Hat man nur mit blossem Auge und Lupe gezählt, so multipliziert man den für 1 qcm gefundnen Mittelwert mit dem Flächeninhalt der Platte.

Musste die Auszählung nach mikroskopischen Gesichtsfeldern gemacht werden, so verfährt man in der vorhin dargelegten Weise. Hiefür ein Beispiel:

Gesetzt, wir hatten durch Messung (Abtastung mit dem Zirkel) den Durchmesser der Kulturschale zu 8,8 cm bestimmt, so ist ihr Flächeninhalt $r^2\pi = 4{,}4^2 \,.\, 3{,}1416 = 60{,}821$ qcm.

Den Flächeninhalt unsers mikroskopischen Gesichtsfeldes hatten wir vorhin zu 8,553 qmm gefunden.

Die Gelatineschicht setzt sich demnach aus 6082,1 : 8,553 = 711 Gesichtsfeldern zusammen.

Haben wir als Durchschnittwert aus 10 oder 20 Zählungen z. B. 59 Kolonien erhalten, so berechnet sich die zur Aussaat gekommne Keimzahl auf 711 × 59 = 59 949 oder rund 60 000.

Angenommen, wir haben bloss ½ ccm Wassers ausgesät, so müssen wir, was bei allen bakteriologischen Wasseruntersuchungen geschieht, auf 1 ccm berechnen, und kommen mithin zu dem Schluss, dass das fragliche Wasser in 1 ccm rund 120000 Keime enthielt.

G. Brunner und Zawadzki haben für Schalen eine Zählplatte herstellen lassen, die aus 64 Triangeln von gleichem Flächeninhalt besteht (C. 14. 616). Auf schwarzem Papier ist zunächst ein weisser Kreis genau von dem Durchmesser der Kulturschale gezeichnet. (Halbmesser = r.) Der Kreis wird mit Hilfe eines Zirkels und eines Lineals in 16 gleiche Sektoren zerlegt. Danach werden in den Kreis drei andre konzentrische Kreise eingetragen, deren Halbmesser r_1, r_2 und r_3 folgendermassen berechnet worden sind:

$$r_1 = \frac{r}{2}; \qquad r_2 = r\,\frac{\sqrt{2}}{2}; \qquad r_3 = \frac{r\sqrt{3}}{2}.$$

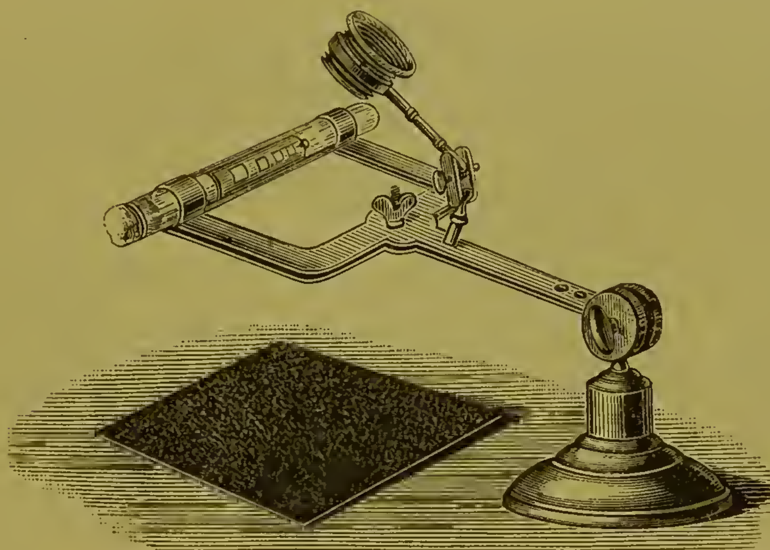
Entweder muss man nur Kulturschalen von stets dem gleichen Durchmesser benützen — die bei R. Muenke, Berlin, Luisenstr. 58, erhältlichen Zählplatten und zugehörigen Schalen mit streng flachem Boden werden zu 10 cm Durchmesser geliefert — oder man muss sich für jede Schale von andrem Durchmesser, wie sie häufig sind, eigne Zählplatten selbst zeichnen. Zu dieser Unbequemlichkeit hat die Methode vor der oben angegebnen auch keinen Vorteil, und bei der Auszählung nach mikroskopischen Gesichtsfeldern ist sie überflüssig.

Die Auszählung von Kulturfläschchen weicht von dem bei den Schalen und Platten angegebnen Verfahren nicht ab.

Zur Auszählung von Rollröhrchen zieht man an der Aussenseite des Röhrchens mit dem Glasstift Längs- und Querlinien, die beliebig weit voneinander entfernt sein können, hält das Röhrchen mit einem Halter (um durch die Handwärme nicht die Gelatine zu erweichen) gegen einen schwarzen Hintergrund und zählt jedes einzelne Feld aus.

Für Lupenzählung gibt es ein eignes Gestell, dessen Einrichtung aus der Figur 138 ersichtlich ist; für besonders notwendig erachte

Fig. 138.



ich es nicht, da man, wenn die Ansiedlungen dichter stehen oder klein sind, doch am besten das Mikroskop zu Hilfe nimmt.

Dabei legt man das Röhrchen zwischen zwei Bleiklötzchen oder Gewichtchen auf den Objekttisch. Die mit dem Glasstift gezognen Rechtecke werden mit Zeichen oder Nummern versehen, damit keins ausser acht bleibt; bei Auszählungen nach Gesichtsfeldern sind sie überflüssig.

An die C. Zeissschen Objekttische ist der Reagensglashalter von v. Sehlen angepasst, bestehend aus einem für den Objekttisch bestimmten Rahmen, von dem sich zwei Stützen mit je einem dreieckigen Ausschnitt erheben; in ihnen ruht das von je einer federnden Klammer festgehaltne Reagensglas.

Die bei der Auszählung nach Gesichtsfeldern notwendige Kenntnis des Flächeninhalts der an der Wand des Röhrchens ausgebreiteten Gelatine erhält man durch die Formel $2r\pi h$, wobei $2r$ der Durchmesser des Röhrchens ist, und h die Höhe der Gelatineschicht bedeutet, gemessen von ihrer obern Begrenzung bis hinab zur Krümmung des untern Randes; den Wert für diese bezieht man annäherungsweise mit ein, wenn man zum vorhin erhaltnen Produkt noch den Durchmesser des Röhrchens addiert, so dass die Formel im ganzen lautet: $2r\pi h + 2r$.

Die bei der bakteriologischen Wasseruntersuchung zu machenden Aufzeichnungen sollen Angaben enthalten über:

Zeit der Entnahme (vom Jahr bis zur Stunde und Minute).
Ort der Entnahme nebst kurzer Beschreibung der Art der Quelle, des Wasserlaufs, des Brunnens, der Röhrenleitung, des Ausflussrohrs u. dgl.
Temperatur des Wassers an der Entnahmestelle.
Aussehen, Farbe, Klarheit, Trübung, Geruch, Geschmack des Wassers.
Ergebnis der mikroskopischen Untersuchung, namentlich der schwebenden Teile (geformte und ungeformte leblose Bestandteile, Infusorien, Algen, Bakterien u. s. w.).
Zeit der Aussaat (Tag, Stunde, Minute).
Menge der Aussaat; Art des Messinstruments, Verdünnungen.
Beschaffenheit des Nährbodens (Zusammensetzung, Alkaleszenzgrad der Gelatine u. s. w.).
Art der verwendeten Züchtungsgefässe (Platten, Schalen, Flaschen, Röhrchen).
Ort der Aufbewahrung der besäten Nährboden (vor Licht geschützt!); Wärmeverhältnisse dieses Orts, durchschnittliche, höchste und niedrigste Temperatur.
Zeit der Besichtigung und Ergebnis.
Zeit der ersten Zählung; Verfahren bei der Zählung; Ergebnis.
Wiederholung der Zählung; wann? Ergebnis.
Ausfall der letzten Zählung; dazu benützte Instrumente (Lupe, Mikroskop).
Endgültige Keimzahl:

a) im ganzen gefundne Keime?
b) darunter verflüssigende?
c) darunter Schimmelpilze?
d) sonstige besonders auffallende Ansiedlungen?
e) als Krankheitserreger verdächtige? Ergebnis der Untersuchung der abgeimpften Reinzüchtungen.

Artuntersuchungen zur Auffindung bestimmter Kleinwesen, z. B. von Cholera-, Typhusbakterien werden in einem besondern Protokoll niedergelegt.

Beurteilung des Wassers auf Grund der mikroskopisch-kulturellen Befunde.

1. Finden sich mikroskopisch schwebende Teile, die nachweislich aus dem menschlichen Haushalt stammen, so ist das Wasser als unbrauchbar für den Genuss zu erklären.

Die Auffindung von Ansiedlungen, die als von Darmbakterien (Bact coli) herrührend angesehen werden können, weist auf bedenkliche Verunreinigungen hin.

Der unzweifelhafte Nachweis von Krankheitserregern, wie Typhusbazillen oder Choleravibrionen, gebietet sofortige Anzeige an die Behörde und die Erklärung, das betreffende Wasser sei verseucht.

2. Je höher die Keimzahl eines Wassers, desto verunreinigter ist es. Bei der Beurteilung der Keimzahl ist eine genaue Würdigung der gegebnen Verhältnisse unerlässlich.

Finden sich in einem Wasser, das sonst Verunreinigungen nicht ausgesetzt ist, höhere Werte, so kann die Ursache davon in an sich unschuldigen Ansiedlungen von Algen u. dgl. liegen, die ihrerseits wieder eine Ansiedlungstätte für Bakterien bieten. Mit ihrer Entfernung muss die Keimzahl des Wassers wieder abnehmen.

Befinden sich aber in der Nähe des unterirdischen Wasserbeckens Wohnstätten, so ist die Möglichkeit einer Beeinträchtigung der filtrierenden Kraft des Bodens ins Auge zu fassen.

Auffallende Keimzunahme in filtriertem Oberflächenwasser lässt auf eine ungenügende Leistung oder Störung der Filteranlage schliessen.

Unfiltriertes Oberflächenwasser ist von vorneherein von jeglicher Verwendung zum Trinken und zum Gebrauch auszuschliessen, gleichviel welches Ergebnis die bakteriologische (oder chemische) Untersuchung geliefert hat. Das bezieht sich auch auf sämtliche sog. Kesselbrunnen, wozu nicht bloss offne Ziehbrunnen zu rechnen sind, sondern auch die mit Stein-, Eisenplatten oder gar nur mit Holzdielen überdeckten Pumpbrunnen, deren Inhalt dem Hineingelangen von Staub, von Spül- und Abwässern, überhaupt von Verunreinigungen jeglicher Art in der bedenklichsten Weise ausgesetzt ist.

Neben der mikroskopisch-bakteriologischen ist das Ergebnis der chemischen Untersuchung eingehend zu würdigen; beide müssen sich gegenseitig ergänzen.

Für die **Untersuchung von Eis, Hagel, Schnee und Regen** gelten dieselben Gesichtspunkte, wie für die des Wassers. Grössere Klumpen von Eis werden nach C. Fraenkel (Z. 1. 304) mit einem sorgfältig gereinigten Hammer zerschlagen, ein etwa zwei Faust grosses Stück mit sterilisiertem destilliertem Wasser abgespült und in ein bedecktes, sterilisiertes Glasgefäss gelegt. Vom entstehenden Schmutzwasser wird eine abgemessne Menge in Nährgelatine eingebracht und zu Platten verarbeitet. Auch hier ist die möglichst unverzügliche Aussaat nach dem Schmelzen wegen der raschen Zunahme des Keimgehaltes beim Stehen unbedingtes Erfordernis, ferner die Rücksicht auf möglichst gleichmässige Verteilung der Keime; dazu mischt man die nach und nach entstehenden Mengen des Schmelzwassers in einem sterilisierten Kölbchen.

In ähnlicher Weise erfolgt die Untersuchung von Hagelkörnern (Bujwid C. 3. 1) und von Schnee, sei es in frisch gefallnem Zustande und fern von bewohnten Gegenden, oder nach längerer Lagerung (Janowski C. 4. 547). Zur Auffangung von Schnee oder Regen genügt ein sterilisierter Glascylinder, der für die Dauer der Aussetzung von seinem Wattestopfen befreit ist. Miquel bediente sich dazu einer besondern Vorrichtung (Hueppe, Methoden S. 464).

Milch.

Die Untersuchung der Milch als Nahrungsmittel erstreckt sich nicht nur auf Bakterien, die dem Körper der milchgebenden Tiere unmittelbar entstammen (S. 420), sondern auch auf Kleinwesen, die nach dem Melken durch irgend welche Umstände ihren Weg in sie finden, wie durch Auffangung und Aufbewahrung in unreinen Gefässen, durch Offenstehenlassen im Zimmer oder an den Verkaufstellen, Hineinlangen mit den Fingern und sonstige unreinliche Manipulationen. Wie sehr verunreinigt in manchen Gegenden die Milch zu Markte kommt, zeigen die Befunde von Renk (M. 91. 99), der durch Absitzenlassen, Auswaschung des Bodensatzes und Filtration verhältnismässig grosse Mengen von Schmutz, namentlich Mist in der Marktmilch von Halle nachwies, wie sie bis jetzt bei ähnlichen, durch die Anregungen jenes Ge-

lehrten unternommnen Untersuchungen in andern Städten nur von der Marktmilch in Giessen übertroffen wird (Z. 12. 475).

Dass eine solche Milch einen ausserordentlichen Keimreichtum aufweisen muss, liegt auf der Hand, zumal da sich die Bakterien in der Milch binnen wenigen Stunden ins millionenfache vermehren (Cnopf Cr. 6. 553).

Grössere Wichtigkeit noch, als die Mengenbestimmung, hat der Nachweis bestimmter Bakterienarten, in erster Linie von krankheitserregenden.

Wie der Nachweis von Tuberkelbazillen geführt wird, ist S. 421 erörtert. Ueber die Milz perlsüchtiger Kühe s. Bollinger (M. 88. 482) und Hirschberger (Mr. 89. 739).

Auch bezüglich des Suchens nach andern Krankheitserregern, wie Diphtheriebazillen, Milzbrandbazillen (s. a. S. 801), Choleravibrionen, Typhusbazillen kann ich auf die frühern Darlegungen verweisen. Die Untersuchung ist wegen der oft massenhaft vorhandnen andern Bakterien hier ebenfalls schwer, namentlich wenn gleichzeitig Kolibakterien drin sind, die in einer mit Stallmist verunreinigten Milch erwartet werden dürfen. Denn wenn auch die Milch verhältnismässig keimarm aus dem Euter gekommen ist, so kann sie doch durch Unreinigkeiten von diesem oder von den Händen der Melkenden infiziert worden sein. Bei einer durch den Genuss ungekochter Milch verursachten schweren Infektion dreier Personen in Giessen züchtete Gaffky aus den diarrhoischen Entleerungen der Kranken ein dem Bacterium coli commune ähnliches, lebhaft bewegliches Kurzstäbchen, das für Meerschweinchen und Mäuse äusserst pathogen war; es gelang Gaffky dasselbe Kleinwesen in den frischen Dejektionen der an hämorrhagischer Enteritis leidenden Kuh wieder zu finden, von der die genossene Milch gemolken war (D. 92. 297).

Die Ausschleuderung kann bei solchen Untersuchungen von Vorteil für die Gewinnung eines positiven Ergebnisses werden, jedoch wolle man nicht bloss den am Grunde des Röhrchens abgesetzten Niederschlag untersuchen, sondern auch die obenauf befindliche Rahmschichte, weil viele Keime an den Fettkügelchen mit aufwärts gerissen werden. Nur für die Untersuchung auf Cholerabakterien wäre eine Ausnahme zu machen, und statt der Zentrifugierung besser die Vorkultur nach S. 456 zu machen, hier mit der Abänderung, dass man etwa 50 ccm Milch mit 150 ccm Peptonwasser verdünnt.

Für den Tierversuch, der möglichst jedesmal zu machen ist, da er mitunter unerwartete Aufschlüsse liefern kann, spritzt man ½ bis 1 ccm Milch Mäusen oder Meerschweinchen (diesen immer, wenn Verdacht auf Anwesenheit von Tuberkelbazillen besteht) in die Bauchhöhle. Je frischer die Milch, desto besser. Durch Ausschleuderung erhaltner Milchschlamm veranlasste in den Versuchen von Wyss (Cr. 6. 587) bei den Tieren immer tödliche Bauchfellentzündung, die durch ein Kurzstäbchen — wahrscheinlich Kolibazillen — veranlasst war. Andrerseits habe ich bei Einspritzungen von längere Zeit aufbewahrter und schon verdorbner Milch keine Meerschweinchen verloren; ein Meerschweinchen vertrug z. B. Milch, die 10 Tage, ein andres welche, die 4 Wochen lang gestanden hatte und stinkend geworden war; Tuberkelbazillen, die ihr vorher absichtlich zugesetzt waren, fanden sich in jenem Falle noch virulent, in diesem abgestorben (K. A. 5. 307).

In Milchwirtschaften kommt eine grosse Anzahl von Kleinwesen in Betracht, die die Gewinnung guter Milchprodukte bedingen oder stören. Die Erreger der Milchsäuregärung sind jedenfalls nicht einheitlich, sondern in verschiednen Gegenden andre; je nachdem ist auch die gewonnene Butter oder der Käse von verschiedner Beschaffenheit in Bezug auf Güte, Gehalt, Geruch und Geschmack.

Die Auffindung der milchsäuernden Bakterien gelingt am besten, wenn man nach Hueppe eine kleine Menge von spontan sauer gewordner Milch in ein Röhrchen mit keimfreier Milch überträgt. Ist die Probe sauer geworden, so wird ein zweites Röhrchen vom ersten abgeimpft und so fort, wobei allmählich die am besten fortkommenden Gärungserreger immer mehr die Oberhand gewinnen und schliesslich durch das Plattenverfahren ohne Schwierigkeit von den weniger zahlreich noch vorhandnen, andersartigen, nebensächlichern Kleinwesen getrennt werden können. In ähnlicher Weise wird man auch Bakterien, die gewisse unerwünschte Veränderungen in der Milch machen und unter Umständen den Molkereibetrieb unangenehm beeinflussen, leichter gewinnen und reinzüchten können, z. B. die Erreger der schleimigen Gärung, der bittern, fadenziehenden Milch, oder die Erzeuger von Farbstoffen, die an sich zwar nicht für die Gesundheit nachteilig sind, aber der Milch eine unansehnliche oder ekelhafte Beschaffenheit verleihen.

Von den Farbstoffbildnern ist es am häufigsten das Bakterium der blauen Milch, das Molkereibesitzer ins Gedränge bringen kann. Dieses in Süddeutschland sehr selten, in Norddeutschland häufig vorkommende Kleinwesen erzeugt himmelblaue bis tief azurblaue, grössere oder kleinere Flecken auf der in Gefässen aufbewahrten Milch. Die nicht mit Sporenbildungsvermögen begabten, beweglichen, bei 50°—60° binnen längstens 10 Minuten absterbenden Aërobier gedeihen nur unter 30° und lassen sich durch das Gelatineplattenverfahren leicht in Reinkultur gewinnen. Vermöge ihrer bezeichnenden Eigenschaften sind sie besonders zur Uebung in bakteriologischen Arbeiten zu empfehlen. Nicht uninteressant ist eine Reaktion blaugefärbter Stellen der Milch: auf Zusatz von fixen Alkalien schlägt die Farbe in Rosa um und wird auf Säurezugabe wieder blau. Bei Uebertragung auf keimfrei gemachte Milch bleibt die charakteristische Färbung aus; entsteht aber nach Gessard (Cr. 11. 375), wenn man ihr 2 % Traubenzucker beigemengt hat. Genaure Angaben über die Lebenseigentümlichkeiten finden sich in meiner Arbeit: Versuche über die blaue Milch (K. A. 5. 518).

Eine Rotfärbung der Milch kann hervorgerufen sein durch den Bacillus prodigiosus, durch Rosa-Sarcine, insbesondre aber durch das von Scholl gefundne, durch seine Lichtempfindlichkeit ausgezeichnete Bacterium lactis erythrogenes*).

Wenn man Milch zu Züchtungszwecken in Reagensröhrchen im Dampf nach Vorschrift zu sterilisieren versucht hat, findet man einige Zeit später nicht selten Proben, an denen eine auffallende Veränderung wahrnehmbar ist: Das Kaseïn ist ausgefallen, eine gelbliche Flüssigkeit steht darüber, und die Reaktion ist alkalisch geworden. Daran sind

*) Eingehenderes s. in der Schrift von Scholl, Die Milch; Wiesbaden bei Bergmann. 1891.

gegen Hitze sehr widerstandsfähige Sporen verschiedner Art schuld, häufig die sog. Buttersäurebazillen. Praktisch kommen solche Bakterienarten bei der Herstellung von Dauermilch in Betracht. Die für die Säuglingsernährung bestimmte, im Soxhletschen Apparat erhitzte Milch wird in der Regel zu bald verbraucht, als dass sich die Erscheinung bemerkbar machen könnte; die darin allenfalls enthaltnen derartigen Keime scheinen im Verdauungskanal der Kinder keine nachteilige Wirkung zu äussern. Jedenfalls ist aber der Forderung Hueppes (B. 91. 717) aufs nachdrücklichste beizustimmen, dass beim Melken und in den Milchwirtschaften grössere Reinlichkeit beobachtet werden soll, um diesem Milchfehler vorzubeugen.

Für die Untersuchung von **Butter** und **Käse** ist im allgemeinen das oben Gesagte einschlägig. Butter wird vor einer Verwendung zur Plattenaussaat oder zum Tierversuch bei 40° verflüssigt. Da die in der Milch vorhandnen Kleinwesen auch in der Butter erwartet werden müssen, so findet sich in ihr als regelmässiger Ansiedler das Oidium lactis, und Laser schlug deshalb (Z. 10. 519) vor, den Nachweis dieses Pilzes in gewissen Fällen zur Feststellung der Anwesenheit von Butter zu benützen.

Käse wird vor der weitern Verarbeitung mit Bouillon oder sterilisiertem Wasser verrieben. Fermi empfiehlt zur Mengenbestimmung der darin enthaltnen Bakterien so viel zu nehmen, als an einem wohl gereinigten, nach dem Glühen gut erkalteten Platindraht hängen bleibt, der bis zu einer in etwa 2 cm Entfernung vom Ende befindlichen Marke in den Käse und dann wieder genau bis zu dieser Marke zehnmal in starre Gelatine gestochen wird. Man wiederholt dieses Verfahren dreimal, verflüssigt sodann die drei Proben und giesst Platten, die später nach mikroskopischen Gesichtsfeldern ausgezählt werden (C. 14. 613).

Fleisch, Würste

gelangen in der Regel erst dann zur Untersuchung, wenn sich nach dem Genuss bedenkliche Erscheinungen bemerkbar gemacht haben.

Schädlich wirkende Bakterienarten können schon von Haus aus darin sein, wenn das Fleisch von erkrankten Tieren stammt, oder die Schädlichkeiten haben sich erst nach der Zubereitung entwickelt, indem Fäulniserreger u. dgl. zur Bildung giftiger Stoffe Veranlassung gegeben haben.

Unter den für den Menschen pathogenen Krankheitserregern, die im Fleische und in den innern Organen von Schlachttieren vorkommen können, sind vor allem die Tuberkelbazillen und Milzbrandbazillen wichtig.

Die zum Nachweis der Tuberkelbazillen nötige Tierimpfung wird mehr wissenschaftliches, als praktisches Interesse bieten, weil sie das Ergebnis spät liefert. Für eine augenblickliche Entscheidung wäre man auf die mikroskopische Untersuchung beschränkt, die aber wegen ihrer Langwierigkeit für eine allgemeine Durchführung nicht geeignet ist. Die in grossen Städten vorzügliche, an kleinern Orten immer besser werdende Fleischbeschau überhebt uns meistens eines solchen Nach-

weises. Die wichtige Frage über das Vorkommen von Tuberkelbazillen im Fleisch, im Blut, sowie in der Milch tuberkulöser Tiere ist namentlich von Bollinger (M. 93. 966) und seinen Schülern Hirschberger, Steinheil, Kastner (M. 92. 342) bearbeitet worden. Dort, sowie in den Mitteilungen von Galtier (Cr. 11. 11 und Hr. 3. 830) finden sich auch Untersuchungen und Literaturangaben über die Resultate bei der Verfütterung von Organteilen tuberkulöser Tiere auf gesunde.

Die Auffindung von Milzbrandbazillen gehört mit zu den leichtesten derartigen Aufgaben, da man die Maus als ausserordentlich empfindliches Versuchstier zur Verfügung hat, und die Milzbrandkolonien mit bezeichnenden Erscheinungen und rasch auf Nähragar oder -Gelatine wachsen. Merkwürdigerweise hat man noch wenig davon gehört, dass der Genuss Milzbrandbazillen enthaltenden Fleisches zur Erkrankung von Menschen geführt hätte, hauptsächlich wohl darum, weil in den Organen keine Sporen sind, und weil die Bazillen beim Kochen zugrunde gehen *).

Dass der Mensch thatsächlich im Darm mit Milzbrand infiziert werden kann, dafür brachte J. Karliński (B. 88, 866) einen Beweis durch den Befund von Milzbrandbazillen in Geschwüren des Magens und Darms eines Verstorbnen, der eine grössere Menge offenbar von einer milzbrandigen Kuh stammenden Milch getrunken hatte, und zwar während er an Typhus krank gelegen war, wo die Milzbrandbazillen freilich leichte Angriffpunkte hatten.

In wie weit die septikämische Erkrankungen von Schlachttieren veranlassenden Bakterien für den Menschen gefährlich sind, steht noch dahin. Die durch Mäuseimpfung leicht nachweisbaren kleinen Schweinerotlaufstäbchen sind für ihn unschädlich. Aber andre, bis dahin noch nicht bekannte Bakterien fand man im Fleische, das zum Genusse gedient hatte, und konnte die nachfolgende menschliche Erkrankung auf sie zurückführen. Zur Erbringung des einwandfreien Beweises ist es selbstverständlich erforderlich, dass beidemale, im Fleisch sowohl, wie in den menschlichen Organen oder in ihren Ausscheidungstoffen genau dieselben Mikroorganismen angetroffen werden. So fand Gärtner als Erreger von Vergiftungen, die durch das Fleisch einer notgeschlachteten Kuh verursacht waren, die gleichen Bazillen, sowohl in den übersandten Fleischproben, wie in der Milz eines daran gestorbnen Arbeiters. Das in seinen Erscheinungen den Typhusbazillen nicht unähnliche Kleinwesen belegte Gärtner mit dem Namen Bacillus enteritidis, weil das Krankheitsbild besonders beim Menschen durch eine heftige Enteritis beherrscht wurde; es war für Mäuse bei subkutaner Einverleibung und bei Verfütterung pathogen (J. 4. 249).

Die experimentelle Bearbeitung der Fleischvergiftungen, die u. a. in einer Abhandlung von Ostertag sehr gut erläutert ist (H. 2. 1048), wurde schon mehrfach in Angriff genommen, es sind aber noch sehr viele Fragen zu lösen.

Die zu untersuchende Ware wird teils unmittelbar in kleinen Stückchen zur Impfung und zur Fütterung von Tieren (Mäusen, Kaninchen, Meerschweinchen) genommen, teils werden Einspritzungen von Verreibungen

*) S. a. W. Koch, Milzbrand und Rauschbrand. Deutsches Archiv für Chirurgie von Billroth und Lücke 1886 Heft 9. S. 76. Ferner Dambacher Hr. 3. 757.

in keimfreiem Wasser oder Bouillon nach vorheriger Abfiltrierung der gröbern Teile, ausserdem Aussaaten auf Gelatine- und Agarplatten gemacht. Verschiedentlich wurden auf diese Weise in verdorbnen Würsten u. dgl. für Tiere pathogene Bakterien gefunden, die den Typhus- oder Kolibakterien ähnlich waren, so von Gaffky und Paak (K. A. 6. 159), von Nauwerck, sowie von Ehrenberg (J. 3. 367). Andremale blieben die angestellten Untersuchungen erfolglos (Johne, J. 3. 366).

Die verdorbne Ware soll nicht bloss der bakteriologischen Untersuchung unterzogen werden, man muss auch versuchen, ob nicht auf chemischem Wege aus dem Fleisch u. dgl., sowie aus den daraus reingezüchteten Bakterienkulturen gelöste Stoffe erhalten werden können, die für Versuchstiere giftig sind.

Als die giftig wirkende Substanz in verdorbnem Fleische wird jetzt allgemein das Neurin angesehen. Jeserich und Niemann haben den Nachweis erbracht, dass dieses unter der Einwirkung verschiedner Bakterienarten als Umwandlungsprodukt des verhältnismässig schwach giftig wirkenden Cholins entstehen kann. Ihren weitern Beobachtungen zufolge halten sich die leicht zersetzlichen Basen Neurin und Neuridin in alkoholischer Lösung lange Zeit. Wir werden darum dem von den beiden Forschern gegebnen Rat folgen und die Ware sofort in absoluten Alkohol legen, selbstverständlich nach vorheriger Entnahme der für die bakteriologische Prüfung bestimmten Teile (H. 3. 813).

Kleidung.

Die Artbestimmung der in Leibwäsche, Unter- und Oberkleidern enthaltnen Kleinwesen geschieht nach den mehrfach erwähnten Methoden. Man wird nicht versäumen, zum Nachweis etwaiger Krankheiterreger Stoffteile Tieren unter die Haut zu bringen (E. Pfuhl, Z. 13. 487). Bei der Untersuchung von Kleidungstücken ist vor allem auch auf das Unterfutter Rücksicht zu nehmen, da nach den Darlegungen von Günther (Dresden) dazu alte Watte verschiedner und bedenklicher Herkunft, selbst von Krankenhäusern verwendet wird, ohne dass durch die fabrikmässige Verarbeitung immer eine Zerstörung der anhaftenden Keime erfolgt (Verh. d. X. internat. Kongr. 15. 159).

Eine Mengenbestimmung ist schwierig und kann nur ungefähre Werte liefern. Hobein brachte 1/4 qcm grosse Teilchen am Leibe getragner Stoffe zur Aussaat auf Gelatineplatten (Z. 9. 218). Ausführlich beschäftigten sich Nikolsky (Cr. 12. 155) und Seitz (Hr. 4. 72) mit dieser Frage.

IV.

Anleitung zur Einrichtung bakteriologischer Arbeitstätten und Erläuterungen zu den Lichtdrucken

nebst Winken für mikrophotographische Aufnahmen.

Anleitung zur Einrichtung bakteriologischer Arbeitstätten.

Der Anleitung liegen die Preisverzeichnisse verschiedner Geschäfte*) zugrunde, von denen ich schon Waren bezogen habe. Die eingesetzten Beträge können bei den manchmal schwankenden Handelspreisen — billiger habe ich zwar bis jetzt kaum etwas werden sehen — keinen Anspruch auf grösste Richtigkeit machen. Das ist aber auch nicht bezweckt. Es sollte die an mich schon wiederholt gerichtete Frage beantwortet werden, wie hoch sich die Kosten für die Ausstattung eines bakteriologischen Arbeitsraums beliefen. Das setzte natürlich die Aufzählung jeder Einzelheit bis zur Kleinigkeit voraus.

Eingerechnet sind dabei nicht die Anschaffung von Mikroskopen, die Einrichtung der Gas- und Wasserleitung mit Anschluss an die Kanalisation, nicht die Kosten für Verpackung und Verfrachtung.

Die Auswahl eines Mikroskops hängt zu sehr von der persönlichen Entscheidung ab; der dadurch bedingte Preisunterschied wäre ein zu hoher. Ueberdies habe ich bereits S. 10 f. die nötigen Ratschläge und Bemerkungen für den Ankauf gegeben.

Die Einrichtung einer Gas- und Wasserleitung mit Anschluss an die Kanalisation wird unterschiedliche Auslagen verursachen, je nachdem die Hauptleitung näher oder entfernter liegt und je nach der Anzahl der anzubringenden Auslässe. Ich verweise dazu auf S. 16 f. und bemerke nur noch, dass ein Gasometer für 10 Flammen etwa 55 M., einer für 20 Flammen etwa 75 M. kostet. Der Gasverbrauch in einem mittlern Laboratorium beläuft sich etwa auf 30—50 cbm, der in einem grössern, wo zwei Untersucher arbeiten und zwei Brutschränke dauernd geheizt sind, auf durchschnittlich 50—60 cbm Gas im Monat.

Nicht zu gering dürfen die Auslagen für Verpackung und Ver-

---

*) Von Fabriken bakteriologischer und chemischer Apparate:
F. & M. Lautenschläger, Berlin N. 24, Oranienburgerstr. 54.
Dr. Robert Muencke, Berlin NW. 6, Luisenstr. 58.
Dr. Herm. Rohrbeck (J. F. Luhme), Berlin NW., Karlsstr. 24.
Für Glaswaren: Chr. Kob & Co., Stützerbach i. Th.
Für Objektträger, Deckgläser u. a. Gebrauchsgegenstände beim Mikroskopieren:
G. König, Berlin NW., Dorotheenstr. 29.
W. P. Stender, Leipzig, Gerichtsweg 10.
Für Chemikalien: Chemische Fabrik von E. Merck, Darmstadt, und von H. Trommsdorff, Erfurt, deren Preiscourant mir zufällig vorlag, sowie von der Droguenhandlung Ebert & Jacobi, Würzburg.
Für Farbstoffe und Reagentien zur Mikroskopie: Die Preisliste von Dr. G. Grübler, Leipzig, Bayersche Strasse 12.
Für einzelne besondre Gegenstände sind die Lieferanten im Verzeichnisse selbst namhaft gemacht.

frachtung veranschlagt werden. Je öfter bestellt wird, je grösser die Zahl der Bezugsquellen ist, desto höher die Kosten. In grössern Städten ist vieles am Platze zu haben. Dinge, die auch an kleinern Orten wahrscheinlich vorrätig sind, habe ich mit ✱ bezeichnet.

Den unterschiedlichen Bedürfnissen Rechnung tragend, führte ich **dreierlei Einrichtungen** auf.

Die **erste** für eine gut bemittelte Stelle. Grössre Institute werden ja noch reicher ausgestattet sein, als ich da angenommen habe. Ich berücksichtigte eben nur das notwendigste und hatte das Ziel im Auge, dass man imstande sei, hier alle an den Bakteriologen herantretenden Untersuchungen ohne irgend welche Behinderung auszuführen, wenn sie nur nicht einen allzugrossen Bedarf an Tieren oder ganz besondre wissenschaftliche Einrichtungen und Apparate verlangen; und selbst diese werden noch aus den für die jährliche Unterhaltung und Erneuerung des Bestandes eingesetzten Mitteln bestritten werden können. Ich machte also alle Gegenstände namhaft, die ich im Laufe der Jahre zu meinen bakteriologischen Untersuchungen nötig hatte und als erprobt (nach Art und Zahl) fand, und fügte noch einige mir erforderlich scheinende hinzu. Ihre Zahl wurde so bemessen, dass zwei Untersucher bequem im Laboratorium arbeiten können. Zugleich nahm ich darauf Rücksicht, dass auch die Ausführung chemischer Analysen, vornehmlich der Luft und des Wassers, ermöglicht seien.

In der **zweiten** Reihe sah ich von grossen und teuern Einrichtungsgegenständen ab. Meinem Plan zufolge sollte sie deren noch so viele enthalten, als zur Anstellung rein bakteriologischer Untersuchungen an klinischen oder pathologisch-anatomischen oder ähnlichen Instituten erforderlich wären.

In den beiden ersten Reihen ist das Vorhandensein von Gas- und Wasserleitung vorausgesetzt. Wenn Gas fehlt, muss man sich mit Benzin-, Spiritusbrennern, Petroleumkochern oder Herdfeuerung zu behelfen suchen; von einer genauern Auswahl und Preisveranschlagung musste ich bei dem Spielraum individueller Bedürfnisse absehen.

Die **dritte** Reihe ist für den praktischen Arzt vorgesehen, der etwa als Leiter eines kleinern gemeindlichen Krankenhauses oder für seine amtlichen oder privaten Zwecke die notwendigsten bakteriologischen Untersuchungen vornehmen will. In erster Linie dachte ich dabei an die Färberei, an die Untersuchungen des Auswurfs auf Tuberkelbazillen, Influenzabakterien u. a.; aber ich berücksichtigte auch die Möglichkeit, dass einmal eine Keimzählung in Wasserproben, eine Kulturuntersuchung von Darminhalt auf Choleravibrionen nötig wäre, und dass selbst Tierversuche mit einigen Mäusen zur Lösung irgend welcher diagnostischer Fragen, z. B. zum Nachweise von Milzbrandbazillen, Pneumoniebakterien, Streptokokken im Blut, in Abscessen, in Empyemen u. dgl. ausgeführt werden sollen. Der teuerste Apparat darunter ist der Dampfsterilisator. Ich glaubte ihn um so mehr einsetzen zu müssen, als er zur Sterilisierung von Verbandstoffen und andern Dingen kaum entbehrlich ist. Und selbst für ihn können die Kosten etwa um die Hälfte verringert werden, wenn der auf S. 355 Fig. 124 angegebne Sputumdesinfektor (für Herdfeuerung) gewählt wird. Ein etwa nötiger Brutschrank kann in der S. 126 angeführten Art improvisiert werden.

Es liegt mir ferne, zu behaupten, dass nun gerade jede bakteriologische Arbeitstätte in der von mir im einzelnen auseinander gesetzten Weise ausgerüstet sein müsse. Ich habe vielmehr darauf Bedacht genommen, die Aufzählung so zu geben, dass stets eine Kombinierung der drei Gruppen stattfinden und die einfachste Einrichtung unter Beibehaltung der bereits angeschafften Gegenstände ohne jeglichen Verlust ergänzt werden kann.

Gerade vor unnützen Anschaffungen glaubte ich die Herren Kollegen durch meine Zusammenstellung bewahren zu können. Wer die Preisverzeichnisse von Fabrikanten und Händlern durchsieht, wird darin zwar alle Apparate finden, die einem begehrenswert erscheinen. Aber wenn man nun an die endgültige Auswahl geht, dann werden bald Zweifel entstehen; das Lehrgeld, das man für seine jeweiligen Entscheidungen zu zahlen hat, ist oft nicht gering. Der Uneingeweihte kann unmöglich im voraus bestimmen, welche von den verschiednen Arten „der neuen oder neuesten Konstruktionen“ die beste und für seine Zwecke die passendste ist, welche Grösse der betreffende Apparat haben soll, damit er sich nicht später als zu umfangreich, zu unbequem oder zu teuer in der Bedienung erweise, oder als zu klein und ungenügend. Darum gab ich die Grössenausmasse bis ins einzelne und entschied mich immer für eine ganz bestimmte Art des Instrumentes oder Apparates, die ich auf Grund jahrelanger Erfahrung als die verwendbarste erkannt habe.

Schliesslich noch einige Winke für die Ausführung mikroskopisch-bakteriologischer Untersuchungen*).

Von vorneherein lege man sich eine oder mehrere Listen an, worin die Herkunft des zu untersuchenden Materials, das makroskopische Aussehen nach Menge, Beschaffenheit, Farbe, Konsistenz u. dgl. verzeichnet wird, schliesslich das Ergebnis des mikroskopischen Befunds der Plattenaussaat und des Tierversuches. Man versäume nie, das Datum des Eingangs und der Untersuchung zu notieren, insbesondre setze man auch stets die Jahreszahl bei, die leider so oft weggelassen wird.

Will sich jemand an die experimentelle Bearbeitung einer aufstossenden Frage machen, so halte er erst gründliche Umschau in der Literatur; dann wird ein Plan, eine Disposition aufgeschrieben. Mit dem ersten Versuche beginne sofort die Anlegung eines genauen Protokolls, worin alle Einzelheiten der Ausführung niedergelegt werden sollen. Wo nur immer angängig, mache man noch eine tabellarische Aufzeichnung der Untersuchungen und Befunde, dann wird man nicht leicht einen Gesichtspunkt aus dem Auge verlieren.

Eine der ersten Regeln für alle Arbeiten ist es, stets Kontrollversuche anzustellen, damit Täuschungen möglichst ausgeschlossen sind.

Bei unerwarteten, merkwürdig scheinenden Ergebnissen gebe man sich nicht lange dem Erstaunen oder der Freude hin, oder fange gar an, auf die noch nicht gesicherte Grundlage hochragende Luftschlösser zu bauen oder weitgehende Folgerungen daran zu knüpfen. Nüchterne

---

*) Allgemeine Regeln für das Verhalten im Laboratorium habe ich bereits da und dort in den Text eingeflochten (s. Inhaltsverzeichnis).

Erwägungen sind da viel mehr am Platze. Hat man sich durch eine Durchsicht der Literatur überzeugt, dass man nicht schon bekanntes neu gefunden, dann heisst es, den Versuch zwei- und dreimal und öfter wiederholen. Wenn die Sache richtig war, muss das Ergebnis immer dasselbe sein.

Wenn Untersuchungen nach bereits bekannten Methoden nicht gelingen, so suche man die Ursache des Misslingens jedesmal und zuerst in dem eignen Verfahren, ehe man der Methode oder den zu ihrer Ausführung verwendeten Hilfsmitteln die Schuld beimisst. Selbstkritik lernt der Arzt nirgends besser, als im Laboratoriumexperiment, wo die Verhältnisse durchsichtig sind und die Erfolge klar vor Augen entstehen, vorausgesetzt, dass der Versuch an der richtigen Stelle eingesetzt hat und zweckentsprechend durchgeführt wurde.

Für alle fortlaufenden Arbeiten lege man einen Terminkalender an. Am Ende jedes Arbeitstages wird die Aufgabe für den folgenden notiert. An diesem lese man sie nochmals durch, vervollständige sie durch etwaige neue Gesichtspunkte und folge dem Plane genau. Nur so ist man davor bewahrt, den allgemeinen Ueberblick zu verlieren, sich mit Einzelheiten zu sehr aufzuhalten oder sich auf Nebenwege zu verirren.

Bevor man nach gethaner Arbeit das Laboratorium verlässt, versichre man sich des gehörigen Verschlusses der Gas- und Wasserauslässe, bringe den Arbeitstisch in Ordnung und wasche und desinfiziere zum Schlusse die Hände. Flecke von Farbstoffen beseitigt man durch wiederholte Abreibung mit Watte, die erst in verdünnte Säure, dann in verdünnten Alkohol getaucht wird.

Dinge, die zum Auskochen bestimmt sind, werden so in einen Topf gelegt, dass sie ganz unter Wasser sind, aber nicht mit den Fingern untergetaucht; die Finger sollen mit Untersuchungsgeräten überhaupt nur dann in unmittelbare Berührung gelangen, wenn man mit Pinzetten und Zangen nicht mehr zurechtkommt! Der Topf zum Auskochen darf nicht zu voll sein, damit nicht Schmutzwasser überkocht oder bei der Einlegung von Dingen herausspritzen kann, sonst würden noch nicht abgetötete Bakterien oder deren Sporen auf den Tisch oder auf den Boden kommen. Wo so was passiert ist, muss sofort Sublimatlösung oder dergleichen aufgegossen werden, die stundenlang dort stehen bleiben muss (nicht hineintreten!).

Das Auskochen soll auch bald geschehen; die infizierten Gegenstände dürfen nicht erst halbe Tage lang im Wasser liegen. Ueberhaupt verbrenne, koche, desinfiziere und reinige man die gebrauchten Dinge immer sofort nach der Arbeit und stelle sie trocken und sauber wieder an ihren Standort. Dazu erübrige man sich nach Beschluss der Arbeit noch ein Viertelstündchen. Reinlichkeit- und Ordnungsinn werden nicht besser geübt und bethätigt, als in einer bakteriologischen Arbeitstätte. Für Anfänger aber möge noch ein Sprüchlein an der Wand festgenagelt sein, das die soeben gedachten und ähnliche Regeln lebendig erhält:

Nach Gebrauch kommt jedes Stück
Rein an seinen Platz zurück!

Zusammenstellung und Wertverzeichnis

der für bakteriologische Arbeitstätten I., II. und III. Ordnung erforderlichen Einrichtungsgegenstände und Chemikalien.

Einrichtungsgegenstände.

Seite	Figur	Gegenstände	M.	Ordnung I		Ordnung II		Ordnung III	
78	51	Asbestplatten 2 mm dick . . . . 1 qm	4.50	1	4.50	1/2	2.25	1/4	1.15
144	87	Apparat für Anaërobiose nach Botkin	9.50	2	19.00	1	9.50		—
102	58	Bänkchen für Platten aus Blech ✲ . .	0.15	20	3.00	20	3.00	10	1.50
		Barchent . . . . 1 m	0.45	1	0.45		—		—
204		Barometer (Heberbarometer)	60.00	1	60.00		—		—
		Bechergläser s. Glas (Kochbecher).							
		Bindfaden (Schnur), stärker u. dünner 100g	0.20-0.40	2	0.60	1	0.20		—
410	127	Birnen von Glas zur Blutentnahme K	0.25	5	1.25		—		—
		Blasebalg ✲ (z. Kohlensäurebest. i. d. Luft)	2.80	1	2.80		—		—
		Blei, altes . . . . K	0.30	10	3.00	5	1.50	2	0.60
		Blockschälchen s. Glasklötzchen.							
16	7	Brenner für Gas							
16		Dreibrenner mit Luftregulierungshülse	4.20	2	8.40	1	4.20		—
		Einbrenner " "	1.60	5	8.00	3	4.80		—
16	7e	do. " Sparflamme	5.00	3	15.00	1	5.00		—
16	7c	do. " Stern u. Schornstein	2.30	1	2.30	1	2.30		—
17	8	Gebläselampe	10.65	1	10.65		—		—
16	7a	Kronenbrenner	4.25	1	4.25	1	4.25		—
74	48	mehrflammiger Brenner f. Autoklaven	10.00	1	10.00		—		—
131	74	Mikrobrenner für Brutschränke . .	3.75-5.00		—	1	5.00		—
16	7f	" nach Reischauer . .	1.25	2	2.50	1	1.25		—
16	7d	Nickeldrahtnetzkappe	1.00	2	2.00		—		—
131		Sicherheitsbrenner nach Lautenschläger mit Glimmercylinder und Halter	22.50	2	45.00		—		—
15	5	Brenner für Spiritus v. Glas 200 g Inh.	1.50	1	1.50	1	1.50	2	3.00
462	134	do. v. Messingblech 100 g Inh.	2.00	1	2.00	1	2.00	1	2.00
127		Brutschränke*) von Kupfer							
127		grosser, doppelthürig. 50 × 28 × 40 cm	260.00	1	260.00		—		—
127		kleinrer, stehende Form 25 × 25 × 38 cm	180.00	1	180.00	1	144.00		—
127	71	liegende Form 50 × 25 × 30 cm . .	70.00		—	1	56.00		—
		Bücher u. a. Drucksachen s. Inh.-Verz. .							
170		Bürsten zur Reinigung der Hände . .	0.25	4	1.00	2	0.50	2	0.50
		Bürstenkasten, aseptische	1.50	1	1.50		—		—
		Chemikalien s. S. 500.							
13		Deckgläser quadrat. v. 18 mm Seite 100 St.	2.00	5	10.00	2	4.00	1	2.00
13		" " 22 " " 100 St.	2.50	1	2.50	1/2	1.25	1/2	1.25
		Dialysator nach Graham, mittl. Grösse	2.40	1	2.40		—		—
		" " Proskauer (Lautenschläger)	2.70	1	2.70		—		—
21		Diamant zum Schreiben auf Glas . .		1	4.50	1	3.00		—
		" zum Schneiden von Glas etwa	15.00	1	15.00		—		—
20	13	Drahtdreiecke verschiedner Grösse . .	0.30	3	0.90	3	0.90		—
16		Drahtnetz ✲ 1 mm Maschenweite als							
19		Unterlage f. Kolben etc. b. Kochen 1 qm	4.50	0.5	2.25	0.1	1.15	0.04	0.45
		Summe:			688.95		257.55		12.90

*) Es sind hier die teuersten von Kupfer, in Anbetracht ihrer Haltbarkeit, gewählt. Deren gibt es auch billigere, einfach ausgestattet. Klempner Joseph Mayer-Würzburg liefert solche in den obigen drei Grössen um 208, 144 und 56 M.

Seite	Figur	Gegenstände	M.	Ordnung					
				I		II		III	
		Uebertrag:			688.95		257.55		12.90
19		Dreifüsse von Eisen 18 × 10 cm . . .	0.80	1	0.80	1	0.80	1	0.80
78	51	do. 21 (Höhe) × 11 (Ringdchm.) cm	0.90	1	0.90	1	0.90	1	0.90
		do. 22 × 14 cm	1.00	1	1.00	1	1.00	1	1.00
		Dreiwegstücke von Glas, Schenkel 5 cm lang, 7 mm weit	0.20	5	—	2	—		—
221		Eisschrank, kleiner (Füllung oben) ✻ .	39.00	1	39.00	1	39.00		—
		Eudiometer 500 mm mit mm-Teilung*)	5.00	1	5.00		—		—
19	10	Exsikkator nach Scheibler:							
		13 cm Dchm. mit Drahtnetzeinlage .	2.85	1	2.85	1	2.85		—
		15 cm Dchm. mit seitl. Tubus u. eingeschliff. Hahn. mit Porzellanplatte	9.00	1	9.00		—		—
		Farbstoffe s. Chemikalien.							
221	107	Filter von Thon nach Kitasato . .	3.50	2	7.00	1	3.50		—
		Reservekerzen dazu	0.50	5	2.50	5	2.50		—
221	108	„ von Thon nach Reichel	4.00	2	8.00		—		—
		Filter mit bekanntem Aschegehalt 9 cm Durchmesser . . . . 100 Stück	2.40	1	2.40		—		—
28		Filtrierpapier, besseres . . 100 Bogen	4.00	2	8.00	½	2.00		—
28		„ geringeres . „ „	2.00	2	4.00	1	2.00	1	2.00
64		Fleischhackmaschine ✻		1	6.70	1	6.70		—
64		Fleischpresse für 1 l		1	10.00		—		—
203	105	Gärungsröhrchen V-förmig K.	0.15	30	4.50	20	3.00		—
133	86	Gasentwicklungsapparat n. Kipp zu 1½ l.	17.50	2	35.00	1	17.50		—
22	18	Gestelle für Farbfläschchen u. s. w. ✻ ca.	5.00	2	10.00	1	5.00		—
27	32	„ für Objektträger und Deckgläser zum Färben, von Eisen . .	5.00	1	5.00		—		—
21		„ für Reagensgläser zu 12 Stück	0.80	10	8.00	5	4.00	2	1.60
21		„ „ „ „ 24 „	1.50	10	15.00	5	7.50	1	1.50
123		„ mit Kistchen zur Aufbewahrung d. Sammlungsreinkulturen ✻ ca.	3.00	5	15.00	4	12.00		—
14	3	„ zum Auflegen der Präparate .	0.60	2	1.20	1	0.60		—
102	57a	Glas-Bänkchen a. Platten 5 × 14 m. Leisten	0.17	50	8.50	30	4.10	10	1.70
		„ Becher gewöhnliche (Schoppen- od. ½ l-Gläser) zum Einstellen der Reagensröhren	0.25	10	2.50	10	2.50	5	1.25
		„ Becher, Kochbecher K.**) 1 Satz zu 12 Stck., hohe Form ohne Ausguss	4.25	1	4.25	1	4.25		—
		„ „ mit „	4.25	1	4.25		—		—
89		„ Cylinder mit eingeschliffnen Stopfen zum Auffangen des Blutes von Schlachttieren 40 × 8 cm . . .	2.25	3	6.75	2	4.50		—
		„ Cylinder zur Aufnahme des Eudiometers, ohne Stopfen 67 × 12 cm		1	4.50		—		—
21	17	„ Cylinder m. eingeschl. Griffstopfen K. 20 × 8,5 cm	1.25	4	5.00	2	2.50		—
		16 × 7 cm	0.90	3	2.70	1	0.90	1	0.90
		10 × 5 cm	0.65	10	6.50		—		—
		10 × 3 cm	0.40	10	4.00		—		—
		Summe:			938.75		387.15		24.55

*) Das Eudiometer, der Glascylinder 67 × 12 cm, die kleinen Rundkolben aus Glas und die Wanne aus Porzellan sind für die Salpetersäurebestimmung im Wasser nach Schulze-Tiemann vorgesehen.

**) Waren, die ich bei C. Kob-Stützerbach (als Fabrikanten) wesentlich billiger fand, wie bei andern Lieferanten, habe ich mit K bezeichnet.

Seite	Figur	Gegenstände	M.	Ordnung I		Ordnung II		Ordnung III	
		Uebertrag:			938.75		387.15		24.55
21	17	Glas-Flaschen, gewöhnl. Medizinflasch. ✲ ½ oder ¾ weiss, Inhalt: 5—6 l	0.50	6	3.00		—		—
		3 l (für Spiritusreste u. dgl.)	0.30	3	0.90	2	0.60	2	0.60
		1 l	0.15	25	3.75	10	1.50	4	0.60
		½ l	0.09	10	0.90	5	0.45	5	0.45
		¼ l	0.06	10	0.60	5	0.30	5	0.30
		100 ccm	0.04	30	1.20	20	0.80	20	0.80
		30 ccm (zu Bouillonkulturen)	0.024	100	2.40	100	2.40		—
41	37	„ Flaschen mit eingeschl. Griffstopfen u. engem Hals; K. 1 l Inhalt	0.58	20	11.60	10	5.80	3	1.74
		Inhalt ¾ l	0.46	5	2.30		—		—
		„ ½ l	0.38	10	3.80	5	1.90		—
		„ ¼ l	0.23	10	2.30	5	1.15	5	1.15
		„ 150 g	0.18	50	9.00	25	4.50	10	1.80
41	37	„ Flaschen mit eingeschl. Griffstopfen u. weitem Hals; K. 1 l	0.75	5	3.75	2	1.50	1	0.75
		Inhalt ½ l (Pulverflaschen)	0.41	5	2.05	2	0.82		—
		„ 100 ccm m. Griffstopfen	0.17	25	4.25	20	3.40	5	0.85
		„ 60 ccm m. Deckelstopf.	0.20	25	5.00		—		—
22	18	„ Flaschen mit eingeschliffner Pipette u. Gummihütchen für Farbstoffe (Stender-Leipzig) 60 g Inhalt	0.55	15	8.25	10	5.50		—
		„ Flasch., braune, m. eingeschl. Stopf. 1 l	0.95	5	4.75	3	2.85		—
		„ „ „ „ „ 150 g	0.30	4	1.20	2	0.60		—
86	52	„ nach Massen K	2.50	1	2.50		—		—
133		„ Wulffsche 1 l	1.30	2	2.60		—		—
		½ l	0.95	2	1.90		—		—
10	1	„ Glocke, braun fürs Mikroskop	6.00	1	6.00	1	6.00		6.00
		„ „ z. Bedeckung v. Präparaten weiss etwa 10 (hoch) × 14 (Dchm.) cm ✲	1.00	2	2.00	1	1.00		—
		etwa 8 × 15 cm	0.50	2	1.00	1	0.50		0.50
		„ Hahn, Geisslerscher, 1 mm-Bohr. K	1.00	2	2.00		—		—
23	20	„ Kelche (Spitzgläser oder Reagierkelche) 150 ccm Inh. m. Ausguss K	0.30	10	3.00	5	1.50	3	0.90
23	19	„ Klötze (Blockschälchen)	0.35	20	7.00	10	3.50		—
		Deckel dazu von Spiegelglas	0.10	20	2.00	10	1.00		—
24	27	„ Kochkolben K. Inhalt 2 l	0.66	3	1.98	1	0.66		—
		Inhalt 1 l	0.38	6	2.28	5	1.90	2	0.76
		„ ¾ l	0.32	10	3.20	10	3.20	3	0.96
		„ ½ l	0.23	10	2.30		—		—
		„ 300 ccm	0.14	10	1.40	10	1.40	5	0.70
		„ 100 ccm	0.08	10	0.80		—		—
		„ 60 ccm	0.08	10	0.80		—		—
		„ Desgl. mit flachem Boden (Erlenmeyersche) Inhalt 100 ccm	0.11	30	3.30	20	2.20	10	1.10
		„ 60 ccm	0.10	20	2.00	10	1.00		—
		„ Rundkolben aus schwer schmelzbarem Glase Inhalt 500 ccm	0.27	3	0.81		—		—
		„ 150 ccm	0.17	3	0.51		—		—
		„ 60 ccm	0.12	10	1.20		—		—
		„ Perlen, kleine ✲ 100 g	0.40	2	0.80		—		—
101		„ Platten f. Kulturen 9 × 13 cm ✲	0.08	2	16.00	1	8.00	½	4.00
		„ „ grosse, quadratisch 35 cm Seite, ¾ cm dick	1.00	2	2.00	1	1.00		—
		Summe:			1079.13		454.08		48.51

Seite	Figur	Gegenstände	M.	Ordnung I	II	III
		Uebertrag:		1079.13	454.08	48.51
22		Glas-Röhren (Biegeröhren) verschiedner Weite K. 1 kg	1.35	2 2.70	1 1.35	½ 0.70
14		„ „ milchweisse, quadr. 15 mm S.	0.50	2 1.00	1 1.00	1 0.50
14		„ „ schwarze, quadr. 15 mm Seite	0.50	4 2.00	2 1.00	1 0.50
103	59c	„ Doppelschalen für feuchte Kammern 22 cm Dchm. d. obern; mit Knopf	2.50	3 7.50	1 2.50	—
103	59a	„ Desgl. ohne Knopf, untere etwa 7 cm h.	1.70	20 34.00	10 17.00	3 5.10
103		„ Doppelschälchen für Kulturen, untere Schale 8—10 cm Durchmesser höchstens 1 cm hoch	0.55	30 16.50	20 11.00	10 5.50
96		„ Desgl. f. Kartoffelscheib. u. a. Zwecke	0.35	10 3.50	—	—
		Dchm. d. obern Schale 4—6 cm	0.45	10 4.50	10 4.50	5 2.25
22		„ Stäbe versch. Dicke 3—11 mm. K. 1 kg	1.35	2 2.70	1 1.35	½ 0.70
22		„ Stäbe aus Bleiglas (Rubinglas) 100 g	1.00	1 1.00	½ 0.50	—
		„ Wanne, rechteckig 20 × 12 × 11 cm	3.25	1 3.25	—	—
		18 × 15 × 3 cm	1.75	1 1.75	—	—
		20 × 4 × 3 cm	0.75	1 0.75	—	—
44	38	„ Winkel zur Paraffineinbettung .	2.80	1 2.80	—	—
		„ Wolle . . . . 10 g	0.75	20 1.50	10 0.75	—
131	74	Glimmercylinder für Brutschranklampen	0.90	2 1.80	—	—
135		Glimmerplättchen quadrat. 65 mm Seite	0.10	5 0.50	—	—
14	2	Gummi. ✳ Doppelgebläse	3.00	2 6.00	—	—
28	34	„ Hütchen f. Farbstoffgläser 10 St.	0.75	20 1.50	10 0.75	10 0.75
28	34	„ Kappen, hohe Form . . „ „	1.00	50 5.00	25 2.50	10 1.00
		„ Desgl., flache Form . . „ „	0.80	50 4.00	25 2.00	—
		„ Schläuche versch. Stärke u. licht. Weite*) graue (Gasschlauch) 1 m	0.70	10 7.00	5 3.50	2 1.40
		schwarze, enge 1 m	1.20	4 4 80	2 2.40	—
		schwarze, weite 1 m	1.40	2 2.80	1 1.40	—
		„ Stopfen (nicht durchlöchert) grosse 30 × 30 (25) mm . .	0.60	10 6.00	5 3.00	—
		kleine 21 × 20 (12) mm . .	0.15	50 7.50	20 3.00	10 3.00
		jede Bohrung 4—5 Pfg.				
		Harnprober nach Vogel m. 2 Spindeln K	1.30	1 1.30	—	—
78	51	Holzklötze als Untersätze (Abfälle von Tischlerarbeiten). ✳				
115	69	Desgl. 17 × 7 × 4 cm m. 3 cm tief. Löchern von 6 mm Weite für Platinnadeln. ✳	0.50	2 1.00	1 0.50	1 0.50
		Instrumente, chirurgische.				
156	100	Kanülen, stärkere 54—74 mm lang .	1.00	3 3.00	—	—
153		Katheter (elastische; schwäch. Numm.)	0.70	3 2.10	—	—
		Nadelhalter	6.50	1 6.50	—	—
		Nadeln, gekrümmte	0.30	10 3.00	3 0.90	—
		Pinzetten, anatomische, grosse 20 cm lg.	2.50	1 2.50	1 2.50	—
		„ „ gewöhnliche .	1.30	10 13.00	5 6.50	3 3.90
		„ „ m. feiner Spitze	1.30	10 13.00	5 6.50	2 2.60
		Summe:		1256.88	530.48	76.91

*) Eine hiesige Gummiwarenhandlung gab mir folgende Preise für Schläuche an:
graue 7 und 1½ mm (lichte Weite und Wandstärke) 1 m = 0.70; 8 und 2 = 0.80; 12 und 2½ = 1.40; 1 kg 5.50 M.; dicker, starkwandiger Schlauch für Luftpumpen geht nur nach Gewicht;
rote 7 und 2 = 1.00; 8 und 2 = 1.20; 10 und 2 = 1.40; 1 kg = 9.00 M.;
schwarze 7 und 1½ = 1.20; 8 und 2 = 1.40; 10 und 2 = 2.00; 1 kg 25.00 M. (weil spez. leichter);
noch dünnere Gummischläuche, die man braucht, haben 5 + 1½; 3 + 1 mm.

Seite	Figur	Gegenstände	M.		Ordnung I		Ordnung II		Ordnung III
		Uebertrag:			1256.88		530.48		76.91
153		Pinzetten, sog. Augenpinzette . . .	2.30	1	2.30		—		—
		„ zur Blutstillung, kleine . .	2.50	5	12.50		—		—
		Scheren, gerade, grosse und kleine .	2.20	3	6.60	2	4.40	1	2.20
		„ gekrümmte	2.50	1	2.50		—		—
		Seidenfaden mittlerer Dicke . 10 g	0.70	1	0.70	1	0.70		—
		Skalpelle verschiedner Grösse . . .	1.00	6	6.00	4	4.00	3	3.00
		Sonde, Hohl-	1.20	1	1.20		—		—
		„ Oehr-	1.00	1	1.00	1	1.00		—
		Staarmesser	2 00	1	2.00		—		—
		Abziehstein f. d. Messer, gelb, belgisch	3.00	1	3.00		—		—
		„ billiger	1.00		—	1	1.00		—
18		Irrigator von emailliertem Blech . . .	2.00	2	4.00	1	2.00	1	2.00
98	55	Kartoffelbürste ✲	0.35	2	0.70	1	0.35		0.35
65		Kartoffelmesser mit Bleibeschwerung .	0.30	10	3.00	5	1.50	5	1.50
		Kartoffelsack	0.20	1	0.20	1	0 20		—
		Kautschukwaren s. Gummi.							
73		Kistchen; leere Cigarren-, versch. Grösse.							
		Kochkolben, Kochbecher s. Glas.							
		Kohle, Holz- für Lötrohrversuche . .	0.20	1	0.20		—		—
143		„ z. Sprengen v. Glas (Sprengk.) 10 St.	0.80	10	0.80	5	0.40		—
27		Korke verschiedner Grösse	2.00		2.00		1.00		0.50
27	33	Korkbohrer v. Messing (12 St.) u. Schärfer	7.25	1	7.25	1	7.25		—
		Korkzieher	0.75	1	0.75	1	0.75		—
143		Krug für Wasser v. Steingut Inhalt 3—4 l	0.60	1	0.60	1	0.60	1	0.60
		Lederlappen (Fensterleder) . . 1 Stück	1.50	1	1.50	1	1.50	1	1.50
		Leinwand, alte ✲							
		Leiter; Stufentritt, Leiterstuhl od. dgl.	8.00	1	8.00		—		—
		Löffel, Doppellöffel aus Bein für Pulver	0.50	2	1.00	1	0.50		—
451	132	„ desgl. aus Stahl, vernickelt, für Bodenuntersuchungen	4.70	1	4.70		—		—
		„ zum Schmelzen von Blei . . .	0.70	1	0.70	1	0.70		—
		Lötkolben	1.75	1	1.75		—		—
		Lötzinn und Salmiak dazu	1.00	1	1.00		—		—
		Lötrohr	0.85	1	0.85		—		—
133	75	Luftpumpe; Wasserstrahl- von Blech mit Wasserstandrohr .	16.50	1	16.50		—		—
133	75	desgl. mit Manometer . .	67.50						
133	75	„ von Glas	3.50	1	3.50	1	3.50		—
		Messgefässe.							
24	26	Büretten mit Glashahn 50 ccm 1/10 ccm	4.25	4	17.00	2	8.50		—
75	49	„ Quetschhahn „ „ 1/10 u. 2/10	2.65	2	5.30	2	5.30	2	5.30
24	26	„ Schwimmer	0.75	2	1.50		—		—
24	25b	Messcylinder mit doppelt. Zahlenreihe K zu 1000 ccm Inhalt	3.50	1	3.50		—		—
		„ 500 „ „	1.80	1	1.80	1	1.80		—
		„ 200 „ „	1.30	1	1.30	1	1.30	1	1.30
		„ 100 „ „	1.00	2	2.00	1	1.00		—
		„ 50 „ „	0.70	1	0.70	1	0.70		—
		Messgefässe (Mensuren) in Becherform mit Henkel von Porzellan 1 l Inh.	2.25	1	2.25		—		—
		Messgefässe in Becherform aus starkem Glase 50-60 ccm Inh. in je 5 ccm geteilt	0.50	10	5.00	10	5.00	5	2.50
24	25a	Mischcylinder m. doppelt. Zahlenreihe K zu 1000 ccm	4.00	1	4.00	1	4.00		—
		„ 100 „	1.25	1	1.25		—		—
		Summe:			1399.28		589.43		97.66

Seite	Figur	Gegenstände	M.	Ordnung	I		II		III
		Uebertrag:			1399.28		589.43		97.66
24	24b	Messfläschchen n. Stomann m. 1 Marke zu 500 ccm Inhalt	1.80	1	1.80		—		—
		„ 100 „ „	0.90	1	0.90		—		—
24	24a	Messkolben mit 1 Marke zu 1000 ccm Inh.	2.20	1	2.20	1	2.20		—
		„ 300 „ „	1.50	3	4.50		—		—
24		Pipetten; Vollpipetten mit 2 Marken							
		zu 100 ccm	1.10	2	2.20	1	1.10		—
		„ 50 „	0.75	1	0.75		—		—
		„ 25 „	0.65	2	1.30		—		—
		„ 20 „	0.60	1	0.60		—		—
		„ 10 „	0.45	3	1.35	3	1.35	2	0.90
		„ 5 „	0.40	2	0.80	2	0.80		—
		„ 2 „	0.35	1	0.35		—		—
		„ 1 „	0.30	5	1.50	2	0.60		—
		Gestell dazu, nach Art derer für Reagiergläser, aber höher . . .	3.00	1	3.00	1	3.00		—
466	134	Pipetten; Messpipetten f. Wasseruntersuchung. 1 ccm get. in 1/10; 2 Marken K	0.25	20	5.00	10	2.50	10	2.50
		f. feine Messungen 1 ccm in 100 Teile	0.80	1	0.80		—		—
		Pipetten ohne jede Marke 20 cm lang K	0.10	5	0.50		—		—
		Metermass ✲; auf Band	0.30	1	0.30	1	0.30	1	0.30
		„ auf Holzstab	1.00	1	1.00		—		—
39	37	Mikrotom v. Schanze mit Jungschem Messer, Streichriemen u. s. w.	112.50	1	112.50		—		—
39		„ einfaches von Jung . . .	27.00		—	1	27.00		—
		Mull (Musselin) ✲ . . . . 1 m	0.15	5	0.75	5	0.75	2	0.30
127		Nachtlichter ✲	0.50	1	0.50	1	0.50	1	0.50
		Nadeln, Näh- (stärkere als Präp.-Nad.) 100 g	0.15	2	0.30	1	0.15	1	0.15
26	31	Halter für die Nadeln	1.20	4	4.80	2	2.40	2	2.40
		Steck-, starke u. feine (Insektennad.) 100 g	0.50	1	0.50	1	0.50		—
166	104	Tuch-, für Mäusesektionen . 12 Stck.	0.10	100	1.00	50	0.50	25	0.30
		Versicherungsnadeln	0.10	50	0.50		—		—
104	61	Nivellier- u. Kühlappar. z. Plattengiessen	12.80	2	25.60	1	12.80		—
		Libelle (Dose) dazu	4.00	1	4.00	1	4.00		—
12		Objektträger a. reinem, weissen Solinglas m. ungeschl. Rändern 76×26 mm 100 St.	1.50	5	7.50	3	4.50	2	3.00
12		m. poliert. Kanten; rund. Ausschliff 10 St.	1.50	30	4.50	20	3.00	5	0.75
278	120	mit rundem Loch in der Mitte 10 St.	2.00	10	2.00		—		—
138	82	nach F. E. Schultze	1.60	1	1.60		—		—
		Oelleinwand zum Bedecken d. Tische 1 m	1.50						
		Operationsbretter s. Tiere.							
		Papier; Packpapier . . . . . 1 Buch	0.90	1	0.90	1/2	0.45		—
		Pergamentpapier . . . . . 1/2 kg	1.00	1/2	1.00		—		—
		schwarzes, glanzloses, zur Auskleidung von Gefässen für Kulturen 1 Buch	1.00	1	1.00	1/2	0.50		—
		Schreib- und Fliesspapier s. dort.							
		Petroleumkochapparat, 2flammig ✲ . .	4.80		—		—		4.80
28	37	Pinsel, Haar- mittlerer Grösse	0.10	20	2.00	10	1.00	5	0.50
26	29b	Pinzetten nach Cornet (von F. & M. Lautenschläger) . . .	1.50	3	4.50	2	3.00	1	1.50
26	29e	„ nach Kühne	1.50	3	4.50	2	3.00	1	1.50
		Pipetten s. Messgefässe.							
		Platinblech . . . . } 1 g		2	2.40		—		—
27		Platindraht, dünn u. stark . . . } 1 g	1.20	3	3.60	1,5	1.80	0,5	0.60
		Platintiegel mit Deckel . . . . } 1 g		15	18.00		—		—
		Summe:			1632.08		667.13		117.66

Seite	Figur	Gegenstände	M.	Ordnung I		II		III	
		Uebertrag:			1632.08		667.13		117.66
15	4	Präparatenkasten in Tafelform . . .	0.45	30	13.50	20	9.00	5	2.25
		Präpariernadeln s. Nähnadeln m. Halter.							
		Putzpomade ✻ . . . . 1 Schachtel	0.30	1	0.30	1	0.30		—
28	35a	Quetschhähne: Klemmen-	0.20	10	2.00	5	1.00		—
28	35b	Schrauben-	0.65	1	0.65		—		—
28	35c	Doppelschrauben-	0.75	4	3.00	2	1.50		—
28	35d	gewöhnl. 60 mm lang	0.30	6	1.80	4	1.20	2	0.60
		„ 75 „ „	0.35	2	0.70	2	0.70		—
		Rasiermesser	3.50	1	3.50	1	3.50		—
20		Reagensgläser*) 160 × 16 mm 100 Stck.	3.75	10	37.50	5	18.75	2	7.50
20		150 × 12 „ 100 „	3.00	5	15.00	3	15.00		—
138	81	von stärkerm Glase m. flachem Boden 250 × 25 mm (auch z. Anaërobiose mit Pyrogallol brauchbar) 10 Stck.	4.50	10	4.50		—		—
		Gestell dazu	0.80	1	0.80		—		—
		-Bürsten	0.25	5	1.25		—		—
21	16	-Halter von Holz	0.30	2	0.60	1	0.30		—
21	16	Desgl. von Messing	0.75	2	1.50	1	0.75	1	0.75
65		Reibeisen	1.20	1	1.20	1	1.20		—
		Röhren von Blei als Ersatz für Gummischlauch, bei längerer Leitung 8 mm Dchm., 6 mm im Lichten . . 1 m	0.30	5	1.50	5	1.50		—
		Rostpapier (Schmirgelpapier) grobes und feines . . . . 1 Blatt	0.04-0.08	5	0.30	3	0.20		—
226	110	Rückflusskühler n. Liebig, Länge 60 cm	2.50	1	2.50		—		—
		Kühlröhren dazu (1 als Reserve) 80 cm lg.	0.90	2	1.80		—		—
		nach Allihn 40 cm lang aus 1 Stück K	2.00	1	2.00	1	2.00		—
23	21	Schalen. Abdampf- von Porzellan, halbtief, ohne Rand mit Ausguss 30 bis 45-60-90-120-160-240 ccm Inhalt .	3.95	1	3.95	1	3.95	1	3.95
		Dieselb., dazu v. 320-650-820-1600 ccm	7.60	1	7.60		—		—
24	23a	Reib- (Mörser) 12 cm Dchm. m. Pistill	3.55	3	10.65	2	7.10		—
24	23b	„ v. Achat 75 mm „ „ „	12.00	1	12.00		—		—
		Sandbadschale v. getrieb. Eisen 20 mm D.	1.00	1	1.00	1	1.00		—
		Glühschälchen m. Deckel v. 3 cm Dchm.	0.15	3	0.45	2	0.30	2	0.30
		„ „ „ „ 4 „ „	0.45	3	1.35	1	0.45		—
		Scheren ✻. 1 grosse Papierschere . .	3.50	1	3.50	1	3.50		—
78	51	1 kleinere	2.50	1	2.50	1	2.50	1	2.50
		Schmelztiegelzange, schwarz lackiert .	0.60	1	0.60	1	0.60	1	0.60
23	22	„ vernickelt	1.75	1	1.75		—		—
		Schreibtafel ✻ an die Wand, schwarz; 80 cm im Quadrat	6.00	1	6.00		—		—
		Schreibwaren ✻. Schreib- u. Konzeptp. 1 B.	0.30	5	1.50	5	1.50	2	0.60
		Linienblatt, Federn, Halter, Bleifedern, Lineal (mit Zentimeterteilung), Löschpapier, blaue Tekturbogen . . .	4.00		4.00		4.00		2.00
28		Stift z. Schreiben a. Glas u. Porzellan	0.30	3	0.90	2	0.60	1	0.30
		Tinte und Tintenfass	1.60	1	1.60	1	1.60	1	1.00
		Schrote zum Tarieren . . . . . 1 kg	0.90	1	0.90	½	0.45		—
166	104	Schüsselchen f. Abgangwäss. b. Färb. etc. ✻	0.45	2	0.90	2	0.90	2	0.90
		Seidenfäden s. Instrumente.							
		Summe:			1789.13		752.48		140.91

*) Um den angeführten Preis bekommt man ziemlich gute Gläser. Wer besonders widerstandfähige Gläser wünscht, muss dies eigens bei der Bestellung angeben; sie kosten selbstverständlich mehr (s. a. Stassches Glas S. 20 Anm.).

Seite	Figur	Gegenstände	M.	Ordnung I	Ordnung II	Ordnung III
		Uebertrag:		1789.13	752.48	140.91
		Seife oder Seifenspiritus ✲	1.00	1.00	1.00	0.50
		Seifenbehälter, asept. nach v. Bergmann	2.80	1 2.80	—	—
		Seifenschüsselchen ✲	0.50	—	1 0.50	1 0.50
102		Siegellack ✲ . . . . 1 kg	1.40	1 1.40	1/4 0.35	1/4 0.35
26	30	Spatel für mikroskopische Schnitte . .	1.50	3 4.50	1 1.50	1 1.50
		Spektralapparat nach H. W. Vogel mit Universalstativ in Etui bei Schmidt & Haensch, Berlin S., Stallschreiberstrasse 4	80.00	1 80.00	—	—
		Spritzen, gläserne m. birnförmig. Fortsatz	0.30	3 0.90	2 0.60	—
154	99	„ nach Stroschein K. zu 1 ccm	2.00	2 4.00	2 4.00	1 2.00
		zu 5 ccm Inhalt	2.25	1 2.25	1 2.25	—
		Silberdraht für die Kanülen 1 Packetch.	0.10	1 0.10	1 0.10	1 0.10
19	41	Stativ von Eisen, Stab zentral 13 mm dick 80 cm hoch	2.30	3 6.90	2 4.60	—
20	12E	Doppelmuffen	0.90	6 5.40	6 5.40	—
20	12D	Doppelmuffen beweglich . .	1.75	2 3.50	—	—
20	12a	Klemme anschraubbar . . .	1.45	1 1.45	—	—
20	12b	„ Form b	1.55	3 4.65	3 4.65	—
20	12c	„ „ c	1.85	2 3.70	1 1.85	—
19	11d	„ „ d	2.25	1 2.25	—	—
19	11	Ringe . . . . 3 Stück	3.50	3 3.50	3 3.50	—
24	27	Stativ von Holz auf Holzplatte, zweiarmig	2.25	1 2.25	1 2.25	1 2.25
		Sterilisierungsapparate:				
54	39	für trockne, heisse Luft, einfache Konstruktion 18 × 16 × 24 cm . . .	18.00	1 18.00	1 18.00	—
		dazu Gestell auf 4 Füssen v. Bandeisen	1.50	1 1.50	1 1.50	—
		Eisenschiene z. Tragen des Brenners	1.25	1 1.25	1 1.25	—
		u. Drahtkörbe (rechteckig) . . .	2.00	2 4.00	2 4.00	—
		für strömenden Dampf:				
55	40	nach Koch mit Kupferboden m. 2 bedeckt. Einsatzgefäss. u. Thermomet.	43.00	1 43.00	—	—
56	41	amerikanisch. System (Budenberg) 35 × 24 cm mit 2 offnen Einsatzgefässen u. 1 Thermometer . .	45.00	1 45.00	1 45.00	45.00
58	42	für gespannt. Dampf (Autoklav) geprüft auf 10 Atmosph.; innen 30 × 21 cm	190.00	1 190.00	—	—
		Gestell z. Aufsetz. d. Objekte v. Messing	1.00	1 1.00	—	—
58	42	Verlängerungsrohr a. Ablassventil, ca.	2.00	1 2.00	—	—
		Gartrellscher Druckmess. u. -regler	50.00	1 50.00	—	—
		Mehrflammiger Brenner	10.00	1 10.00	—	—
		Passendes Thermometer	3.00	1 3.00	—	—
		Einsatzgefäss mit Deckel und durchlochtem Boden (Rost)	4.20	1 4.20	1 4.20	—
56	41	Drahteinsätze offen, gewöhnliche .	2.00	1 2.00	1 2.00	—
59	43	zum diskontinuierlichen Sterilisieren nach Heim (bei J. Mayer-Würzburg)	18.00	1 18.00	—	—
		Streichhölzer, schwedische ✲ . 1 Paket	0.15	10 1.50	10 1.50	10 1.50
41	37	Streichriemen (Zimmer-Berlin) s. auch Mikrotom	4.50	—	1 4.50	—
102	56	Taschen von Stahlblech				
106	63	10 × 5 × 14 cm (ohne Henkel) . . .	1.80	4 7.20	2 3.60	—
65		20 × 6 × 6 „ für Kartoffelmesser .	1.80	1 1.80	1 1.80	—
		21 × 4 × 3 „ „ Wasserpipetten .	1.50	2 3.00	1 1.50	—
		Teller von Porzellan, ✲ tiefe . . .	0.30	2 0.60	2 0.60	6 1.80
		Summe:		2326.73	874.48	196.41

Seite	Figur	Gegenstände	M.	Ordnung I		II		III	
		Uebertrag:			2326.73		874.48		196.41
25		Thermometer							
		— 20 bis + 250° Milchglasskala	3.00	2	6.00	2	6.00		—
		desgl. Teilung an der Röhre	3.50	2	7.00		—		—
		— 10 bis + 100° Milchglasskala	2.50	2	5.00	2	5.00		—
		— 10 bis + 100° „ geteilt in ½° mit langem Stiel	7.00	2	14.00	1	7.00		—
		Minuten-, zur Messung der Körperwärme von Tieren	3.00	1	3.00		—		—
		Maximum- und Minimum- nach Six-Kapeller	12.00	2	24.00		—		—
		Thermoregulatoren nach L. Meyer							
128	72	einfachste auf 20—40° eingestellt	6.50		—	2	13.00		—
130		vollkommnere „ „ „	15.00	2	30.00		—		—
128	72	einfachste „ 40—70° „	6.50	1	6.50		—		—
129		Hülse zum Schutz des Brutschrankes	1.50	2	3.00	2	3.00		—
		Tiere s. S. 145*).							
149		Behälter für Frösche	5.00	1	5.00		—		—
149	101	Bleiklötze 8×3×1 cm, etwa 200 g schwer	0.12	30	3.60	20	2.40	5	0.60
		Gläser für Mäuse mit beschwertem Deckel, im Handel	2.00		—		—		—
149		bei Selbstbeschaffung: ✲							
157	101	Einmachgläser 17 × 11 cm	0.25	30	7.50	20	5.00	5	1.25
157	101	Drahtnetze, runde 21 cm Dchm.; 3 mm Maschenweite	0.15	30	4.50	20	3.00	5	0.75
148	93	Käfige f. Kaninchen u. Meerschweine**)	43.00	2	86.00	1	43.00		—
		dazu 2 Schüsseln aus Steingut, 1 St.	0.50	4	2.00	2	1.00		—
147	92	Käfige für Mäuse, Doppelkäfig	6.00	6	36.00	3	18.00		—
146	90	Mausfalle	0.50	2	1.00	2	1.00	1	0.50
152	98	Operationsbrett für Kaninchen	36.00	1	36.00		—		—
151	94	„ -Blech „ Mäuse	6.50	1	6.50	1	6.50		—
152	97	„ -Brett „ Meerschweine	15.00	1	15.00		—		—
151	95	„ -Tafel „ Ratten	30.00	1	30.00		—		—
		Sektionsbrett für Kaninchen einfach 60 × 37 cm	1.00	1	1.00	1	1.00		—
		für Meerschweinchen 37 × 25 cm	0.75	1	0.75	1	0.75		—
166	104	für Mäuse	0.10	5	0.50	3	0.30		—
152		Unterlagbrett, rot gestrichen mit Rand	3.00	1	3.00	1	3.00	1	3.00
146	91	Zange z. Halten der Mäuse 23 cm lang	2.50	2	5.00	1	2.50		—
152	96	„ „ „ „ Ratten	3.50	1	3.50		—		—
20		Töpfe ✲; einfach v. Blech mit Deckel u.							
109	66	durchlochtem Einsatz 19 × 25 cm	3.80	2	7.60	1	3.80		—
		desgl. 16 × 21 cm	2.40	1	2.40	1	2.40		—
	104	grau emailliert 18½ × 22 cm	4.20	1	4.20	1	4.20		—
		dazu je ein Blecheinsatz	0.40	4	1.60	3	1.20		—
78	51	desgl. gewölbt mit Deckel	2.40	1	2.40	1	2.40	1	2.40
74	48	blau emailliert 13 × 15 cm	1.40	1	1.40	1	1.40		—
115	69	desgl. 10 × 12 cm	0.60	2	1.20	2	1.20	1	0.60
		dazu je ein Blecheinsatz	0.30	3	0.90	3	0.90	1	0.30
62	45	desgl. sog. Suppentopf 15 × 12 cm	1.80	1	1.80	1	1.80		—
		Summe:			2695.58		1015.23		205.81

*) Preise für Streu und Futter ortsüblich, ungefähr:

Weissbrote 10 St.	0.30 M.	Hafer . . 1 Ctr.	7—8 M.	Holzwolle . 1 kg	0.50 M.
Rüben . . 1 Ctr.	1.00 „	Weizen . . „	14 „	Sägespäne . 1 „	1.00 „
Kartoffeln . „	1.00 „	Gerste . . „	10 „	Stroh . . 1 Bund	0.15 „

**) von Gitterstricker Wirth, Würzburg, unterer Mainquai.

Seite	Figur	Gegenstände	M.	Ordnung I		II		III	
		Uebertrag:			2695.58		1015.23		205.81
75	49	Töpfe, sog. Suppentopf 10 × 10 cm . .	1.20	1	1.20	1	1.20	1	1.20
18		Topf ✲ f. Abfallstoffe v. lackiertem Blech	8.70	1	8.70	1	8.70		—
		desgl. einfacher . . . . . . etwa	3.00		—		—	1	3.00
23		Trichter, gewöhnlicher von Emailblech ✲ 15 cm Durchmesser von Glas K .	1.00	1	1.00	1	1.00	1	1.00
		von 22,5 cm Dchm.	0.67	1	0.67	1	0.67		—
		„ 20 „ „	0.50	1	0.50		—		—
		„ 15 „ „	0.35	1	0.35	1	0.35		—
		„ 14,5 „ „	0.33	2	0.66	1	0.33		—
		„ 12 „ „	0.25	1	0.25		—		—
		„ 10 „ „	0.20	2	0.40	1	0.20	1	0.20
		„ 8 „ „	0.15	2	0.30	2	0.30	2	0.30
		„ 5 „ „	0.10	20	2.00	10	1.00	5	0.50
		Ablauftrichter 23,5 cm Dchm. K . .	1.90	1	1.90		—		—
62	45	Einsatz in Trichter (Filterschutz) von Porzellan	0.50	2	1.00	1	0.50		-
62	45	Dampftrichter (Mayer-Würzburg) etwa	30.00	1	30.00	1	30.00		—
61	44	Heisswassertrichter 15 cm Dchm. mit Dreifuss	10.75	1	10.75		—		—
24		Scheidetrichter Inhalt ½ l K . .	3.00	1	3.00		—		—
226	113	„ 100 ccm „ . .	1.60	2	3.20		—		—
24	27	„ 60 „ „ . .	1.40	2	2.80		—		—
		Trichterröhren „ . .	0.25	2	0.50		—		—
33		Trockenröhren (Absorptionsröhren) . .	0.50	4	2.00		—		—
18		Trockenschränkchen, einfachwandig, auf 4 Füssen, v. Eisenblech 18 × 13 × 13 cm mit 2 durchlochten, herausnehmbaren Blechplatten	6.00	1	6.00		—		—
23		Uhrgläser von 40—55 mm Dchm. K .	0.12	10	1.20	5	0.60		—
		105, 120 u. 155 „ „ zusammen	1.40	1	1.40		—		—
		paarweise aufeinandergeschliffen, mit Messingklemme K	0.60	3	1.80		—		—
		Untersätze v. Porzellan für Flaschen (Bierglasuntersätze) 7—10 cm Dchm. . .	0.20	30	6.00	25	5.00		—
		15 „ „ . .	0.25	20	5.00	15	3.75	4	1.00
222	109	Vakuumdestillierapparat nach Brieger mit Wasserstrahlluftpumpe, Wulfscher Flasche, Brenner, Thermometer . .	150.00	1	150.00		—		—
278		Wachskerzchen	0.10	5	0.50	2	0.20	1	0.10
25		Wagen. Analysenwage v. Westphal zu 100 g Belastung, kurzarmig . . .	210.00	1	210.00		—		—
		dazu 1 Satz vergoldet. Gewichte bis 50 g	39.00	1	39.00		—		—
25		Wage v. Mohr-Westphal zur Best. d. spez.Gew.-Flüss., Nr.2 f.pharm.Zweck.	45.00	1	45.00		—		—
25		Säulentarierwage zu 3 kg Belastung, 1 ctgr angebend	50.00		50.00		—		—
		Gewichtsatz 0,001—200 g	15.00	1	15.00		—		—
25		Billigere einfache, hängende Tarierwage mit Metallschalen u. Bügel für 1 kg Belastung nebst Holzsäule auf Brett *)	28.50		—	1	28.50		—
25		Gewichtsatz von Messing 0,001—500 in Holzkasten	12.00		—	1	12.00		—
		Summe:			3297.66		1109.53		213.11

*) Bach & Riedel, Berlin S., Alexandrinenstr. 57.

Seite	Figur	Gegenstände	M.	Ordnung I	Ordnung II	Ordnung III
		Uebertrag:		3297.66	1109.53	213.11
25		Tafelwage, oberschalige mit quadrat. Messingschalen 5 kg Tragkraft ✻ gute Konstruktion . . . . ca.	22.00	1 22.00	1 22.00	—
		Einzelgewichte ✻: 500 g v. Messing ✻	2.00	1 2.00	—	—
		2 u. 1 kg von Eisen, einfachst zus.	1.20	1 1.20	1 1.20	—
		Wägegläschen 50 × 30 mm	0.65	3 1.95	—	—
		Wanne v. Porzellan z. Auffangen v. Gasen über Flüssigkeiten (für 6 kg Quecksilber)	3.60	1 3.60	—	—
		Waschschüssel	1.10	—	—	1 1.10
21	14	Wasserbad 18 cm Dchm. mit stetem Zufluss (Niveauhalter), Ringen u. Dreifuss .	9.00	1 9.00	1 9.00	—
28		Watte, entfettete (Wundwatte) . 1 kg	2.00	5 10.00	2 4.00	1 2.00
		Watte, nicht entfettete, zur Herstellung der Wattestopfen für Kulturgläser 1 kg	1.80	5 9.00	2 3.60	1 1.80
		Werkzeuge u. Einrichtungsgegenstände: einzelne s. a. Schluss . . . . etwa	36.00	36.00	25.00	15.00
	137	Zählapparat für Plattenkulturen nach Wolffhügel	11.50	1 11.50	1 11.50	—
		Lupe dazu	2.00	1 2.00	1 2.00	—
		Zählplatte allein	4.00	—	—	1 4.00
352	123	Zentrifuge (Bohn & Herber-Würzburg)	50.00	1 50.00	—	—
		Gesammtsumme:		3455.91	1187.83	237.01

An Werkzeugen führe ich an: Beisszange 1.10; Blechschere 2.40; Bohrer 5 Stück mit Leier 2.30; Drahtzange 2.00; Ahle, Feilen, grössere und kleinere (für Glas) 1.20; Hammer 0.80; Nägel verschiedner Grösse 0.80; 1 Schraubstock (klein) 3.40; Schraubenzieher 0.70 und 0.20; Handsäge (sog. Fuchsschwanz) 1.10.

Ferner gehören die zum Reinigen nötigen Gegenstände zur Ausrüstung, als: Kleiderbürste 3.00; Staubbesen 2.25; Schrupper 0.90; Scheuerlappen 0.60; Waschschaff 1.90; Wurzelbürste 0.35; Handbesen und Kehrichtschaufel 1.80; Kohlenkasten und Kohlenschaufel 3.20. Handtücher.

Nicht zu vergessen: ein Spiegel, der bei Berührung des Gesichtes mit Farbstoffen oder ätzenden Dingen (Säuren u. dgl.) recht wichtig werden kann.

Endlich ist noch verschiedner, in der vorhin gegebnen Zusammenstellung nicht berücksichtigter Einrichtungsgegenstände zu gedenken, wie Tische, Stühle, Schränke, Regale, Kleiderhalter u. dgl. An Anstalten, wo Laboratorien eingerichtet werden sollen, sind derartige Sachen meist schon vorhanden, ich kann mich daher mit einigen Winken begnügen.

Wenn ein sog. Laboratoriumstisch nicht vorhanden — ein grosser Tisch, unten mit einer Anzahl verschliessbarer Schränkchen versehen, in der Mitte auf der Tischplatte einen längs verlaufenden mehrfächrigen Aufsatz zum Hinstellen der Reagentien tragend — dann muss man sich durch Verwendung zweier oder mehrerer einfacher Tische und

Standregale helfen. Tische braucht man ungefähr 6—7, für jeden rechnet man 1 Stuhl; ihre Länge betrage 1, 1 1/2—2 m, ihre Breite 65, 70—80 cm, ihre Höhe 70—80 cm. Schränke sollen, wenn sie nicht besondern Wandseiten, Nischen u. dgl. angepasst sind, etwa 100 × 40 cm Bodenfläche haben und etwa 170—180 cm hoch sein. Die Ecken im Innern sollen Zahnleistenbesatz bekommen, damit die Einsatzbretter (etwa 1,8 cm dick) beliebig weit aus- oder näher aneinander gelegt werden können. Wandregale mit einfürallemal festgemachten Querbrettern müssen die Grösse der einzustellenden Flaschen berücksichtigen. Im allgemeinen wird es empfehlungswert sein, die einzelnen Abteilungsbretter 20 und 30 cm voneinander zu stellen und für hohe Cylinder u. dgl. ein eignes Fach von 50—60 cm Höhe vorzusehen. An Schränken sind Glasthüren sehr beliebt. Sie sind durchaus ungeeignet, wenn drinnen Kulturen aufbewahrt werden sollen. Zu diesem Zweck bestimmte Spinde müssen lichtundurchlässige Thüren haben, die nur im Bedarffalle geöffnet werden.

Chemikalien.

Chemikalien		M.	Ordnung I		Ordnung II		Ordnung III	
Aether	K*)	1.20	1	1.20	1	1.20	1	1.20
Agar-Agar	K	6.00	1	6.00	1/2	3.00	1/4	1.50
Alaun	„	1.00	1/4	0.25		—		—
Alkohol, versteuerter	„	1.30	5	6.50	5	6.50	3	3.90
Ammoniak (Liqu. Ammonii caust.)	„	0.40	1/2	0.20	1/2	0.20	1/2	0.20
Ammoniumchlorid	„	0.85	H	0.10		—		—
„ karbonat p. a.	„	1.20	H	0.15		—		—
„ molybdat p. a.	„	8.50	1/4	2.15		—		—
„ oxalat p. a.	„	6.00	H	0.60	50	0.30		—
„ sulfat p. a.	„	1.80	H	0.20		—		—
Amylalkohol	„	5.00	1	5.00		—		—
Amylum	„	0.70	1	0.70	1	0.70		—
Anethol (Anisöl) von Schimmel & Co. Dresden Schmelzpunkt bei 26° C.	H	2.80	1/2	12.00	1/5	5.60	1/5	5.60
Anilin (Anilinöl) p. a.	K	2.60	1/2	1.30	1/5	0.55	1/5	0.55
Asphaltlack I^a für Deckgläser G.	„	3.00	1	3.00	1/2	1.50	1/2	1.50
Auramin G.	D	0.65	D	0.65		—		—
Bariumchlorid	K	0.60	1/5	0.15		—		—
„ hydrat	„	5.00	1/5	1.00		—		—
„ karbonat	„	2.80		—		—		—
„ nitrat	„	1.10	1/5	0.25		—		—
Benzoëpurpurin G.	D	0.60	D	0.60		—		—
Benzol	K	2.80	1	2.80	1/2	1.40		—
Bismarckbraun G.	H	3.00	H	3.00	50	1.50	50	1.50
Bleiacetat	K	1.00	50	0.10		—		—
Bleinitrat	„	1.40	1/2	0.70	1/5	0.30		—
Borax	„	0.90	50	0.05		—		—
Braunstein	„	7.50	1/4	1.90		—		—
Brucin	D	1.15	D	1.15	D	1.15		—
Summe:				51.70		23.90		15.95

*) K bedeutet 1000.0 g, H 100.0 g, D 10.0 g. p. a. = pro analysi (Merck). G = Dr. G. Grübler, Leipzig, Bayersche Strasse 12.

Chemikalien		M.	Ordnung I		II		III	
Uebertrag:				51.70		23.90		15.95
Cedernöl (vom Mikroskop-Lieferanten).								
Celloidin-Schering G.	1 Tafel	3.00	1	3.00	1	3.00		—
Chlorhydrinblau G.	D	0.40	D	0.40		—		—
Chlorkalzium (granulicrt)	K	4.00	1/2	2.00	1/4	1.00		—
Chloroform	„	3.50	1	3.50	1	3.50	1	3.50
Chrysoidin	D	0.55	D	0.55		—		—
Citronensäure	K	6.25	H	0.65	H	0.65		—
Collodium	„	1.60	1/2	0.80	1/2	0.80	1/2	0.80
Dahlia G.	D	0.45	D	0.45	D	0.45	D	0.45
Diphenylamin p. a.	H	1.60	H	1.60	50	0.80		—
Eisenchlorid	K	0.60	H	0.10	H	0.10		—
Eosin	D	0.60	25	1.50	D	0.60	D	0.60
Erythrosin	„	0.40	D	0.40		—		—
Essigsäure (Eisessig) p. a.	K	1.50	1	1.50	1/2	0.75	1/4	0.40
Ferrosulfat p. a.	„	1.20	1/2	0.60	1/2	0.60	1/4	0.30
Fleischextrakt, Liebigsches	H	1.40	H	1.40	H	1.40		—
Fluorescin G.	D	0.80	20	1.60	D	0.80	D	0,80
Fuchsin G.	H	3.80	H	3.80	H	3.80	H	3.80
Gelatine	K	6.00	1	6.00	1	6.00	1	6.00
Gentianaviolett	H	3.50	H	3.50	50	1.75	50	1.75
Glyzerin	K	2.00	1	2.00	1/2	1.00	1/4	0.50
Glyzerin-Gelatine nach Kaiser G.	H	1.00	50	0.50	50	0.50	20	0.20
Goldchlorid	1 g	2.00	1	2.00		—		—
Gummi, arabisches	K	3.50	1	3.50	1	3.50	1/2	1.75
Indigolösung p. a.	„	1.50	1/2	0.75		—		—
Jod	H	3.60	25	0.90	25	0.90	D	0.40
Jodoform	„	4.30	20	0.90	20	0.90		—
Kalilauge (nach dem Arzneibuch)	K	0.80	1/2	0.40	1/2	0.40	1/4	0.20
Kaliumbichromat	„	2.40	1/2	1.20	1/4	0.60		—
„ bromid	„	4.25	1/4	1.10		—		—
„ chromat p. a.	„	3.00	30	0.10		—		—
„ hydrat p. a. (Stangen)	„	1.90	1/2	0.85	1/4	0.50	1/4	0.50
„ jodid p. a.	„	24.00	H	2.40	50	1.20	50	1.20
„ karbonat	„	1.70	1/5	0.35		—		—
„ nitrat p. a.	„	0.90	1/2	0.45	1/4	0.25		—
„ nitrit p. a.	„	5.50	H'	0.55		—		—
„ permanganat (schwefelsäurefrei) p. a.	„	10.00	H	1.00		—		—
„ rhodan. p. a.	„	4.00	50	0.20		—		—
Kanadabalsam in Xylol gelöst in Tuben G.	1 St.	0.50	2	1.00	2	1.00	2	1.00
Karbolsäure, rohe	K	0.35	5	1.75	5	1.75		—
„ verflüssigte*)	„	2.20	1	2.20	1	2.20	1/2	1.10
Karmin G.	D	0.60	20	1.20	D	0.60	D	0.60
Kernschwarz G.	„	0.20	D	0.20		—		—
Kieselguhr	K	0.50	1/2	0.25	1/2	0.25		—
Kobaltochlorid	H	1.50	50	0.75		—		—
Kupferblech, dünn	K	9.50	1/2	4.75	1/2	4.75		—
Kupferdrehspäne (Abfälle bei der Verarbeitung)	※							
Kuprisulfat	K	0.70	1/2	0.35	1/5	0.15		—
Lakmoid (Merck)	D	1.00	D	1.00		—		—
Lakmus, reinster	H	2.50	H	2.50		—		—
Lakmuspapier, Streifen in Buchform von Dietrich-Helfenberg: blau	10 St.	1.00	D	1.00	5	0.50	2	0.20
rot	10 „	1.00	D	1.00	5	0.50	2	0.20
Summe:				122.15		71.35		42.20

*) Acid. carbolic. liquefact. ist Acid. carbol. cryst. in der Wärme verflüssigt und auf 100 Teile mit 10 Teilen dest. Wassers versetzt.

Chemikalien		M.	Ordnung I		Ordnung II		Ordnung III	
Uebertrag:				122.15		71.35		42.20
Lysol	K	2.50	1/2	1.25	1/2	1.25		—
Malachitgrün G.	H	5.40	30	1.80	D	0.55	D	0.55
Marmorabfälle	K	0.20	1	0.20		—		—
Metadiamidobenzol (Metaphenylendiamin)	D	1.80	D	1.80	D	1.80		—
Methylenblau G.	H	5.00	H	5.00	H	5.00	H	5.00
Methylviolett (Hexamethylviolett) G.	„	5.00	50	2.50	D	0.50		—
Milchsäure	„	2.20	50	1.10	50	1.10		—
Natrium ameisensaures	H	1.25	H	1.25	50	0 65		—
„ ammoniumphosphat p. a.	K	4.50	30	0.15		—		—
„ chlorid p. a.	„	5.00	1/2	2.50		—		—
„ „ reines	„	0.70	1/2	0.35	1/2	0.35	1/2	0.35
„ hydrat p. a. (Stangen)	„	3.30	1/2	1.65	1/4	0.85	1/4	0.85
„ indigschwefelsaures	D	1.20	D	1.20	D	1.20		—
„ karbonat (kryst.) p. a.	K	1.00	1	1.00	1	1.00	1/2	0.50
„ „ gewöhnliche Soda	„	0.25	1	0.25	1	0.25	1	0.25
„ phosphat	„	0.80	H	0.10		—		—
„ sulfat p. a.	„	5.00	H	0.50		—		—
Natronlauge (nach dem Arzneibuch)	„	0.75	1/2	0.40	1/2	0.40	1/4	0.20
Nesslers Reagens s. S. 230 Anm.								
Nigrosin G.	D	0.45	D	0.45		—		—
Olivenöl	K	1.60	1	1.60	1/2	0.80	1/4	0.40
Origanumöl, echtes G.	H	3.30	50	1.65		—		—
Osmiumsäure in Röhrchen zu 1/2 g	.	2.00	1/2	2.00		—		—
Oxalsäure p. a.	K	6.00	1/4	1.50	1/4	1.50		—
Paraffin, festes (nach dem Arzneibuch)	„	2.10	1/2	1.05	1/2	1.05	1/2	1.05
„ „ Schmelzpunkt 45° G.	H	0.40	200	0.80	H	0.40	H	0.40
„ „ „ 52° G.	„	0.40	200	0.80	H	0.40	H	0.40
„ flüssiges	K	1.60	2	3.20	1	1.60		—
Pepton, trocknes, weisses von Witte-Rostock	„	18.00	1/2	9.00	1/2	9.00	1/4	4.50
Phenolphtaleïn	D	0.85	D	0.85	D	0.85	5	0.45
Phloxinrot G.	„	0.80	D	0.80		—		—
Phosphormolybdänsäure, gelöst, p. a.	K	7.00	1/4	1.75		—		—
Phosphorsäure	„	0.90	1	0.90	1/4	0.25		—
Pikrinsäure	„	5.00	1/2	2.50	1/2	2.50	H	0.50
Pikrokarmin nach Weigert. G.	H	0.90	H	0.90	H	0.90	H	0.90
Platinchlorid	1 g	1.00	2	2.00		—		—
Pyrogallussäure	H	3.50	H	3.50	50	1.75		—
Quecksilberchlorid p. a.	K	7.00	1	7.00	1	7.00	1/2	3.50
Rosolsäure	D	2.00	D	2.00	D	2.00		—
Safranin G.	„	0.75	D	0.75		—		—
Salpetersäure p. a.	K	1.20	1	1.20	1	1.20	1/2	0.60
Salzsäure p. a.	„	0.60	1	0.60	1	0.60	1/2	0.30
„ rohe	„	0.25	1	0.25	1	0.25	1	0.25
Schwarzbraun G.	D	0.60	D	0.60		—		—
Schwefelammonium (Darstellung durch Einleitung von Schwefelwasserstoff in verd. Ammoniak).								
Schwefeleisen	K	0.45	1	0.45	1	0.45		—
Schwefelsäure p. a.	„	0.60	1	0.60	1	0.60	1/2	0.30
Schwefelwasserstoff (Darstellung aus Schwefeleisen und Salzsäure im Kippschen Apparat).								
Silbernitrat	H	5.00	H	5.00	50	2.50	25	1.25
Spiritus s. Alkohol.								
Tannin p. a.	K	5.00	1	5.00	1/2	2.50	1/4	1.25
Tereben G.	H	1.20	H	1.20		—		—
Terpentinöl	K	1.25	1	1.25	1/2	0.65	1/2	0.65
Summe:				206.30		125.00		66.60

Chemikalien.		M.	Ordnung I	Ordnung II	Ordnung III
Uebertrag:			206.30	125.00	66.60
Toluol	K	6.00	1/2 3.00	—	—
Tropäolin 00 G.	D	0.50	D 0.50	D 0.50	—
Uranin G.	„	0.60	D 0.60	—	—
Vaselin	K	1.50	1/2 0.75	1/4 0.40	1/4 0.40
Vesuvin G.	D	0.30	D 0.30	D 0.30	D 0.30
Viktoriablau 4R. G.	„	0.70	D 0.70	—	—
Wachs	K	3.70	25 0.10	25 0.10	25 0.10
Wasser, destilliertes, aus der Apotheke	„	0.10	5 0.50	3 0.50	5 0.30
Wasserstoffsuperoxyd G.	„	3.50	1/2 1.75	—	—
Wollschwarz G.	D	0.55	D 0.55	—	—
Xylol G.	K	4.00	1 4.00	1 4.00	1 4.00
Zinkstaub	„	0.65	1/2 0.35	—	—
Zinnchlorid	„	1.90	1/4 0.50	H 0.20	—
Gesamtsumme:			219.90	131.00	71.70

Unter Berücksichtigung des auf S. 485 Gesagten würden sich die Einrichtungskosten für ein Laboratorium folgendermassen stellen:

Für die I. Ordnung 3455.91 + 219.90 = 3675.81 M.
„ „ II. „ 1187.83 + 131.00 = 1318.83 „
„ „ III. „ 237.01 + 71.70 = 308.71 „

Als jährliche Unterhaltungskosten und Ausgaben für die Ausführung von Untersuchungen:

Für die I. Ordnung 1500 M.; ohne Wasser, Gas und Chemikalien 1200 M.

Für die II. Ordnung 1000 M.; ohne Wasser, Gas und Chemikalien 700—800 M.

Für die III. Ordnung 150—200 M.; ohne Wasser, Gas und Chemikalien 100—150 M.

Diese letzten Summen sind nur ganz annähernd abgeschätzt und werden sich je nach den Verhältnissen unter Umständen ganz erheblich ändern, doch geben sie wenigstens ungefähre Anhaltepunkte.

Erläuterungen zu den Lichtdrucken
nebst Winken für mikrophotographische Aufnahmen.

Die folgenden Mikrophotogramme habe ich mit Zeissschen apochromatischen Systemen und mit Hilfe des grossen Zeissschen mikrophotographischen Apparats aufgenommen. Näheres darüber enthält der Spezialkatalog über Apparate für Mikrophotographie, manches auch schon das Verzeichnis über Mikroskope und mikroskopische Hilfsapparate der ausgezeichneten Firma. Zur Einführung in die Lehre und in die Technik der mikrophotographischen Kunst benützte ich das Lehrbuch der Mikrophotographie von R. Neuhauss (Braunschweig bei Harald Bruhn 1890), sowie die Einleitung zum mikrophotographischen Atlas der Bakterienkunde von C. Fraenkel und R. Pfeiffer (Berlin bei A. Hirschwald).

Die Hantierung mit dem mikrophotographischen Apparate selbst ist Sache des Nachdenkens und der Uebung. Sehr gut freilich kamen mir dabei die Ratschläge zustatten, die mir Herr Professor Zettnow in Berlin gelegentlich einiger Besuche in seinem Laboratorium an der Hand der praktischen Vorführung mehrerer Aufnahmen gab, wofür ich ihm Dank weiss.

Eine Beschreibung des Zeissschen Apparats und der Aufnahme mikrophotographischer Objekte würde hier zu weit führen. Jedoch wird die nachstehende Tabelle jedem, der sich für Mikrophotographie interessiert, soviel sagen, wie eine längere Auseinandersetzung.

In dieser Tabelle geben Stab 1 bis 3 Tafel, Nummer und Benennung des Objekts an.

Stab 4 erteilt über die Färbung des Präparats Aufschluss. Sie muss natürlich ganz tadellos sein. Am geeignetsten ist die rote. Ich habe deshalb früher blau tingierte oder verblasste Ausstriche meist mit verdünnter, jedoch auch mit unverdünnter Karbolfuchsinlösung nachgefärbt und mit Spirituswaschung korrigiert (S. 36), bis sich die Bakterien vom Untergrund in der geeigneten Weise abhoben. Am besten liessen sich Präparate ohne aufgelegte Deckgläser photographieren. Das von mir vielfach benützte apochromatische System von 3 mm Brennweite überwand selbst dünne Deckgläser nicht ganz gut, wie z. B. auf Tafel II Nr. 10 und auf Tafel VIII Nr. 49 zu erkennen ist, wo die Randzone sehr bald unscharf wird. In Kanadabalsam bereits eingebettete Präparate habe ich deshalb meistens abgelöst, die Deckgläser nach 24stündigem Liegenlassen in Xylol nachgefärbt und mit den präparatfreien Seiten an die Objektträger mit Balsam angeklebt. Es bedeutet r = rot, b = blau, v = violett.

Zu Stab 5. Die käuflichen Platten arbeiten für die Mikrophotographie wohl alle zu wenig hart. Glücklicherweise traf ich gleich anfangs auf eine geeignete Sorte, die Platte von C. Schleussner (Frankfurt a. M.). Für Aufnahme mit schwächern Systemen, wo eine grössere Lichtstärke zur Verfügung steht, nehme ich gern weniger empfindliche Platten, die ein feiner gezeichnetes Bild geben. Sehr gut fand ich in dieser Beziehung eine englische, die sog. Sandell-Platte*), die eine 3- bis 5malige und noch längere Belichtung gegenüber den sonst gebräuchlichen verträgt. (Mit dieser englischen Platte habe ich sämtliche makrophotographischen Aufnahmen gemacht, die den Holzschnitten zu Vorbildern dienten.) Etwa in der Mitte zwischen Schleussnerscher und Sandell-Platte steht die von Monkoven, die ebenfalls eine sehr gute Detailzeichnung liefert. Die in der Emulsion gefärbten Platten von Joh. Sachs (Berlin) fand ich zu meinen Aufnahmen mit künstlichem Licht als ganz ungeeignet. Die meiner Ansicht nach besten existierenden Platten für Mikrophotographie sah ich bei Herrn Professor Zettnow, der allerdings die grosse Mühe nicht scheut, sie sich selber herzustellen.

In der Tabelle bedeutet:

E = englische (Sandell) Platte,
M = Platte von Monkoven,
S = Platte von Schleussner,
geb = in Erythrosinlösung gebadet.

Zu Stab 6. Die Färbung der Platten mit Erythrosin, die bei Aufnahmen mit grüngelbem Lichte immer notwendig ist, habe ich durch Selbstbadung der Platten erreicht. Man löst 1 g Erythrosin (von Schuchardt in Görlitz) in 500 ccm Alkohol; von dieser spirituösen Lösung nimmt man 5—10 ccm auf 200 ccm Wasser, filtriert und badet darin die Platten etwa 1 Minute lang in der vollkommen dunkeln Kammer. Zur Trocknung habe ich das Gestell mit den gebadeten Platten in einen nur aus Rahmen bestehenden Kasten gestellt, dessen sechs Seiten innen mit Kalmuk, aussen mit schwarzem Tuch überzogen waren, und der mit dem Deckel nach unten auf 4 Füsschen stand, um der Luft allseitig freien Zutritt zu gewähren.

Zu Stab 7. Die Zahl bedeutet die äquivalente Brennweite des Apochromatobjektivs in Millimetern.

In Stab 8 ist die Nummer des Okulars verzeichnet. Es sind damit die besondern, für Mikrophotographie bestimmten Projektionsokulare gemeint.

Stab 9 gibt den Teilstrich an, bis zu dem das Projektionsokular in seinem obern Teile ausgezogen werden musste, damit das Bild tadellos scharf wurde. Man erkennt die richtige Einstellung des Okulars daran, dass der auf der blanken Scheibe der Kamera mit der Lupe

*) Sandell-Platte von R. W. Thomas & Co. in London, zu haben bei Romain Talbot, Berlin C.

betrachtete Rand des Bildkreises weder blaue noch rote Farbensäume zeigt, also vollkommen scharf ist.

In Stab 10 ist die Entfernung der blanken oder matten Scheibe vom Objekttisch des (umgelegten) Mikroskops angegeben, da sich diese mit dem Meterstabe bequemer feststellen lässt, wie die im Grunde richtigere Entfernung zwischen Okularende und Bild.

Stab 11 enthält die Marke des ausziehbaren Tubusstückes, bis zu der ausgezogen war. Bei 130 ist der Tubus überhaupt nicht ausgezogen, bei 140 um 1 cm u. s. f. Da meistens Schlittenstücke zwischen Tubus und Objektiv eingeschaltet waren, hatte ich in jenen Fällen eine Tubuslänge von etwa 150 oder 160 mm. Bei der Aufnahme von Kolonien auf Schalenkulturen musste die Schale durch ein eignes, am Mikroskopstativ befestigtes und von mir konstruiertes Gestell gehalten werden. Da das Objekt dadurch etwa 2 mm vom Objekttische des Mikroskops entfernt war, so musste der Tubus um ebensoviel nach hinten verschraubt werden. Dann reichte aber die Schraube nicht mehr aus, wenn das 35 mm-System gebraucht wurde, und man war genötigt, die Schlittenstücke zu entfernen und den Tubus entsprechend länger auszuziehen.

Die in Stab 12 angegebne Vergrösserung fusst auf unmittelbarer Messung, nicht auf der im Zeissschen Spezialkatalog S. 36 angegebnen Berechnung, die mir nicht genügend genaue Werte lieferte. Unter den gleichen Verhältnissen, unter denen das Präparat aufgenommen war, wurde das Bild eines Objektmikrometers (1 mm geteilt in 100 Teile) auf die Mattscheibe entworfen und mit einem Zentimetermassstabe gemessen.

Zu Stab 13. Die Beleuchtung wurde entweder mit Auerschem Glühlicht (= A) oder mit Zirkonsauerstofflicht (= Z) erzielt. Zu diesem liefert Zeiss eine eigne Lampe mit Zirkonstift, der von Zeit zu Zeit erneuert werden muss, da er leicht abbröckelt. Die kleine Gasflamme wird durch den Eintritt des komprimierten Sauerstoffs in eine Stichflamme verwandelt, deren Spitze man gegen den Zirkonstift richtet, so dass er in hellste Glut kommt. Hört man dabei ein stärkeres Zischen, so bedeutet dies unnötige Sauerstoffverschwendung. Der verdichtete Sauerstoff wird in Ballons (mit Gestell!) zu 1000 l Inhalt aus der Sauerstofffabrik von Th. Elkan in Berlin N, Teglerstrasse 15, bezogen.

Zwischen der künstlichen Lichtquelle und dem Mikroskope habe ich die grosse Zeisssche Sammellinse eingeschaltet; die nötige Entfernung vom Mikroskop richtet sich nach der Helligkeit, die das Bild auf der Mattscheibe zeigt und die man sich einfürallemal feststellt. Meine Lampen standen ganz am Anfang des Reiters der optischen Bank, 10—15 cm dahinter die grosse Sammellinse.

Diese Sammellinse fällt bei Aufnahmen mit dem 35 mm-Apochromaten weg. Die Lampe — in diesem Falle bloss das Auersche Glühlicht — wird etwa 50 cm vorm Mikroskop aufgestellt.

Zu Stab 14. Zur Aufnahme aller gefärbten Präparate ist das Zettnowsche Lichtfilter erforderlich. Denn nur die grüngelben Strahlen werden von den rot, violett oder blau gefärbten Zellen zurückgehalten, wodurch diese dunkel werden und entsprechend ihrer stärkern oder geringern Färbung mehr oder weniger unbelichtete Stellen an ihren Bildpunkten auf der lichtempfindlichen photographischen Platte zurücklassen. Das Zettnowsche Lichtfilter lässt nur grüngelbe Strahlen auf das Objekt und durch dieses auf die dafür empfindliche Erythrosinplatte fallen. Es besteht aus:

Kupfernitrat $Cu(NO_3)_2$ 200 g,
Chromsäure CrO_3 . . 25 g.

Salz und Säure werden zuerst einzeln in etwa ¼ l destillierten Wassers gelöst, dann giesst man die Lösungen zusammen und bringt die Flüssigkeitsmenge durch Wasserzusatz auf 600 ccm. Je mehr man das Filter verdünnt, desto mehr Licht wird man auf der Mattscheibe haben, aber desto unsichrer wird auch seine Wirkung, wovon man sich leicht durch eine spektroskopische Untersuchung überzeugen kann. Ich habe viele Grade von Verdünnungen gemacht, sie spektroskopisch und praktisch geprüft und sie bezeichnet mit 1 + 0, 1 + 1, 1 + 2 u. s. w. Mit der Verdünnung 1 + 10 lassen sich noch ganz gute Ergebnisse erzielen. Ich habe sie in der Tabelle mit 10 bezeichnet, die unverdünnte Kupferchromlösung mit 0; die übrigen Zahlen in Stab 14 sind danach leicht verständlich.

Zu Stab 15. Will man grössere Schärfe am Rande des Bilds erzielen oder überhaupt Einzelheiten deutlicher zum Ausdruck bringen, kurz statt eines Farbenbilds ein Strukturbild (S. 7) haben, so bedarf man der Blenden. Im achromatischen Kondensor, der von Zeiss zu mikrophotographischen Zwecken eigens hergestellt ist und hier statt des gewöhnlichen Abbeschen Beleuchtungsapparats verwendet wird, ist bereits eine Irisblende angebracht. Beim Gebrauch des 35 mm-Apochromaten muss dieser Kondensor durch eine kleine, schwache Sammellinse ersetzt werden; dann muss man zwischen Leuchtkörper und Mikroskop noch eine besondre, wohl zentrierte Irisblende auf dem Reiter der optischen Bank aufstellen. Meistens reicht man mit einer Blendenstellung aus, die den dritten Teil der Linsenöffnung verschliesst. Man nimmt, wenn das Bild scharf eingestellt und die richtige Beleuchtung erzielt ist, das Okular vom Tubus und überzeugt sich, ob die Blendenöffnung grade in der Mitte des hellerleuchteten kleinen Gesichtsfelds steht (andernfalls muss man die Irisblende höher oder niedrer stellen oder durch Unterlegung eines kleinen Holzkeils seitlich verschieben), und schätzt die Abblendung der Linsenöffnung nach Bruchteilen ab.

Zu Stab 16. Die Belichtungszeit habe ich nach Sekunden ausgedrückt; sie ist bei kürzern Belichtungen immer mit Maeltzels Metronom gezählt worden. Besonders für den Anfang empfiehlt es sich, mit der Zeissschen Schiebekassette zu arbeiten, die gestattet, auf einer Platte von 9 × 12 cm 5 Probeaufnahmen zu machen. Später, wenn man mehr Uebung in der Beurteilung der Helligkeit des Bildes auf der Mattscheibe hat, braucht man sie immer seltner. Es empfiehlt

sich, eher etwas zu wenig, als zu viel zu belichten, da eine nachträgliche Verstärkung des Bildes leichter ist, als eine Abschwächung. Die Belichtungszeiten schwanken oft sehr, weil die Lichtstärken, namentlich beim Auerlicht, ausserordentlich verschieden sind.

Zur **Entwicklung der belichteten Platten** fand ich folgende Lösungen von Zettnow ganz vorzüglich (Eders Jahrbuch für Photographie und Reproduktionstechnik für das Jahr 1890):

Die Pyrogallollösung:
Aq. dest. von 60—70° C. 460 ccm,
Acid. acetic. 5 ccm,
Natriumsulfit (durchscheinendes, nicht mehlig überzognes, schwefligsaures Natron) 200 g,
Umrühren bis zur Auflösung und filtrieren.
Pyrogallol 28 g.

Gibt eine Menge von 600 ccm. Diese Lösung hält sich selbst in bloss halbgefüllten, jedoch gut verschlossnen Flaschen viele Monate lang.

Für eine Platte bis zu 13 × 18 cm braucht man eine Mischung
von dieser Pyrogallollösung 8 ccm,
mit 10%iger Sodalösung 16 ccm
und dest. Wasser 24 ccm.

In dieser Mischung entwickelt man die Platte bei vollständiger Dunkelheit (auch ohne rotes Licht), zunächst etwa 1½—2 Minuten lang, gibt dann mehrere Tropfen 10%iger Bromkalilösung zu und entwickelt etwa noch 4 Minuten lang. Dann spült man die Platte mit Wasser ab und legt sie für kurze Zeit in etwa 150 ccm einer Lösung von:

Aluminiumsulfat 8,0,
dest. Wasser 1000,0,
Schwefelsäure 2 ccm.

Die darauf wieder mit Wasser abgespülte Platte kann man nun schon bei gewöhnlichem Lampenlicht, ja selbst bei gedämpftem Tageslicht betrachten. Dann kommt sie ins Fixierbad. Ich benützte stets das saure Fixierbad Zettnows:

Auf 50 ccm einer Lösung von
unterschwefligsaurem Natron (Natriumhyposulfit) 100,0
in dest. Wasser 300,0
kommen 5—7 ccm einer Lösung von
schwefligsaurem Natron (Natriumsulfit) 25 g,
dest. Wasser 100,0,
Salzsäure (von 1,12 spez. Gew.) 15 ccm.

Man lässt gehörig ausfixieren (besser in bedeckter Schale) und wäscht dann die Platte gründlich aus. Zur Beseitigung der Erythrosinfärbung badet man bis zu 22 Stunden oder wäscht in 2%iger Kochsalzlösung.

Die in grössern Abständen voneinander auf Holzgestellen getrockneten Platten kann man mit Sublimatlösung und Ammoniak noch verstärken. Da die Silberschichte der käuflichen Platten durch die Aufnahme bei Lampenlicht fast niemals die gewünschte Deckkraft erlangt, so ist eine Verstärkung auch bei gut belichteten Platten meistens noch erwünscht. Das gilt jedoch nur für Kopien auf Papier. Sind die Photogramme für den Lichtdruck bestimmt, so soll die Verstärkung unterbleiben, wenn die Gegensätze von Licht und Schatten auf den Bildern sonst genügend sind.

Die getrockneten Negative überzieht man nach vorgängiger gelinder Erwärmung mit Negativlack.

Die Wiedergabe meiner Bilder in Lichtdruck wurde in der rühmlichst bekannten Kunstanstalt von J. B. Obernetter in München ausgeführt. Zur Erkennung von Einzelheiten wolle man die Photogramme mit der Lupe betrachten.

Tabelle zu den Mikrophotogrammen.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Tafel	Nummer	Präparat	Färbung	Platte	Erythrosin	Apochromat	Okular	Okular-Auszug	Entfernung vom Objekttisch	Tubuslänge	Vergrösserung	Licht	Lichtfilter	Blende	Belichtung
I	1	Staph. aur. . . .	r	S	geb	3	IV	3.3	785	130	650	Z	5	—	80
	2	Staph. aur. Kol. .	—	S	geb	16	II	10	595	130	40	A	—	—	1
	3	Strept. pyog. . .	r	S	geb	3	IV	3.3	785	130	650	Z	5	—	80
	4	Strept. pyog. Kol.	r	S	geb	3	IV	2.3	995	130	920	A	2	—	360
	5	Streptoc. Kol. . .	—	E	geb	16	IV	3	715	130	100	Z	—	2/3	11
	6	M. tetrag. Kol.. .	—	E	geb	16	IV	3	715	130	100	Z	—	2/3	20
	7	Micr. tetrag. . .	r	S	geb	3	IV	3.1	750	130	615	Z	10	—	60
II	8	Bac. anthr. Kol. .	—	M	—	35	II	7.8	1340	140	38.5	A	—	1/3	375
	9	Bac. anthr. Blut .	r	S	geb	3	IV	3.3	770	130	640	Z	10	—	70
	10	Bac. anthr. Sporen	r	S	geb	3	IV	3.3	775	130	640	Z	10	—	70
	11	Bac. anthr. „	v	S	geb	3	IV	3.3	775	130	640	Z	10	—	70
	12	Bac. oedem. mal. .	r	S	geb	3	IV	3.3	785	130	650	Z	10	—	50
	13	Bac. tetani . . .	r	S	geb	3	IV	3.3	785	130	650	Z	6	—	55
III	14	Dipl. lanc. . . .	r	S	geb	3	IV	2.3	995	130	920	A	2	—	360
	15	Dipl. lanc. Kol. .	—	E	—	16	II	10	595	130	40	A	—	2/3	60
	16	Dipl. lanc. Blut .	r	S	geb	3	IV	3.3	785	130	650	Z	5	—	80
	17	Bac. tuberc. . . .	r	S	geb	3	IV	3.1	785	130	650	Z	10	—	70
	18	Bac. tuberc. . . .	r	S	geb	3	IV	2.3	1000	130	925	A	5	—	420
	19	Bac. tuberc. . . .	r	S	geb	3	IV	2.3	1000	130	925	A	5	—	300
IV	20	Soorpilz	b	S	geb	16	II	10	590	130	40	A	0	1/2	50
	21	Soorpilz	b	S	geb	3	II	9.5	655	130	250	A	0	1/2	300
	22	Bac. mucos. . . .	r	S	geb	3	IV	3.2	785	130	650	Z	5	—	150
	23	Aktinomyces . .	b	S	geb	3	II	10	570	130	200	Z	0	1/2	120
	24	Elast. Fasern . .	—	S	geb	16	II	7.3	1090	140	100	Z	10	2/3	60
	25	Bac. Influenz. . .	r	S	geb	3	IV	3.3	785	130	650	Z	10	—	70
V	26	Bac. leprae . . .	r b	S	geb	3	IV	3.1	785	130	650	Z	10	—	120
	27	Streptbac. ulc. moll.	b	S	geb	3	IV	3.1	785	130	650	Z	10	—	120
	28	Gonococcus . . .	r	S	geb	3	IV	3.2	785	130	650	Z	5	—	120
	29	Gonococcus . . .	r	S	geb	2	IV	2.3	882	130	1000	A	2	—	450
	30	Malariablut . . .	b	S	geb	3	IV	3.2	785	130	650	Z	2	—	150
	31	Spir. febr. recurr. .	v	S	geb	3	IV	3.1	785	130	650	Z	3	—	120
VI	32	Diphtheriemembran	r	S	geb	3	IV	3.1	785	130	650	Z	5	—	120
	33	Bac. diphth. Kol. .	—	M	—	35	II	8	1340	130	39	A	—	1/3	370
	34	Bac. diphth. . . .	r	S	geb	3	IV	3.2	785	130	650	Z	5	—	105
	35	Vibr. Cholerae asiat.	r	S	geb	3	IV	3.2	785	130	650	Z	5	—	150
	36	Bac. mallei . . .	r	S	geb	3	IV	3.2	785	130	650	Z	5	—	120
	37	Vibr. Chol. Kol. .	—	M	geb	35	II	7	1040	140	35	A	10	1/2	530
VII	38	Bac. typhi Kol. .	—	S	geb	35	II	9.7	775	140	22.5	A	10	1/3	150
	39	Bac. typhi Kol. .	—	M	geb	35	II	8	940	140	30	A	10	1/3	315
	40	Bac. typhi Kol. .	—	S	—	35	II	9	760	140	20	A	—	1/3	300
	41	Bac. typhi Kol. .	—	M	—	35	II	8.5	785	140	21.5	A	—	1/3	480
	42	Bac. typhi . . .	r	S	geb	3	IV	3.1	785	130	650	Z	10	—	70
	43	Bact. coli Kol. . .	—	M	—	35	II	8.1	780	160	21	A	—	1/3	360
	44	Bact. coli	r	S	geb	3	IV	3.2	785	130	650	Z	4	—	100
VIII	45	Bac. typh. Geisseln	r	S	geb	3	IV	2.3	995	130	920	A	2	—	360
	46	Bac. prot. fluor. .	r	S	geb	3	IV	3.2	785	130	650	Z	5	—	120
	47	Penicillium . . .	—	S	—	16	II	6.5	1705	140	182.4	Z	—	1/3	16
	48	Asperg. fum. . .	—	E	—	3	II	10	655	130	250	Z	—	1/2	3
	49	Oidium lactis . .	—	E	—	3	II	10	655	130	250	Z	—	1/2	3
	50	Mucor racem. . .	—	M	—	16	II	6.5	1705	130	175	Z	—	1/4	18

Autorenregister.

Sachregister.

